MORPHOLOGISCH-ZYTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN DER BLUT-LYMPHOZYTEN BEI EXTRAKORPORAL UND GANZKÖRPER-BESTRAHLTEN RATTEN VOR UND NACH ANTIGENSTIMULIERUNG

GERHARD GERSTMAIR

1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545802_0100

Aus der I. Medizinischen Abteilung
des Städtischen Krankenhauses München-Schwabing
Chefarzt: Prof. Dr. H. Begemann

MORPHOLOGISCH-ZYTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN DER BLUT-LYMPHOZYTEN BEI EXTRAKORPORAL UND GANZKÖRPER-BESTRAHLTEN RATTEN VOR UND NACH ANTIGENSTIMULIERUNG

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
GERHARD GERSTMAIR
aus Neusäß bei Augsburg

München 1968

Dissertations - Druck · Blasaditsch · Augsburg

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Professor Dr. H. Begemann
Korreferent:	Professor Dr. W. Seitz
Dekan:	Professor Dr. F. Holle

Tag der mündlichen Prüfung:
13. Februar 1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

M E I N E N E L T E R N

I N D A N K B A R K E I T G E W I D M E T

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

EINLEITUNG Seite 9

MATERIAL UND METHODEN

Ganzkörperbestrahlung (GKB) 13
Extrakorporale Bestrahlung (EKB) 13
Transplantate 14
Gewinnung der Ausstriche 15
Färbemethoden 15
Zelldifferenzierung 16

ERGEBNISSE

Ganzkörperbestrahlung 500R 18
Panoptische Färbung 18
Nukleolenfärbung 21
Ganzkörperbestrahlung 550R 24
Panoptische Färbung 24
Extrakorporale Bestrahlung 29
Operationseffekt 29
Bestrahlungseffekt 29
Panoptische Färbung 30
Nukleolenfärbung 31
Esterasefärbung 31
Transplantate 37
Homologe Hauttransplantate 37
Nierengewebstransplantate 38
Korrelierung von Immunosuppression und Leukopenie 39

DISKUSSION

Zytomorphologische Veränderungen durch GKB 42
Blutbildveränderungen durch GKB 42
Regenerative zytomorphologische Veränderungen nach GKB . . . 43
Regenerative Blutbildveränderungen nach GKB 43
Unterschiedliche Wirkungen beider GKB 46
Blutbildveränderungen durch die EKB 46
Blutbildveränderungen durch die Shuntoperation 48
Morphologisch und funktionell unterscheidbare Lymphozyten . . 49
Sichtbare Transplantatabstoßung und immunologische Reaktion . 53
Blutbildveränderungen und immunologisch aktive Lymphozyten . 53
Nierengewebstransplantate 55

ZUSAMMENFASSUNG 56

LITERATURVERZEICHNIS 58

EINLEITUNG

Natura sanat, medicus curat.

Dieser Leitspruch, der auch heute noch gilt, umreißt mit wenigen Worten die Aufgabe der Inneren Medizin: den Körper in seiner Abwehr gegen äußere oder in ihm selbst entstandene Schädlichkeiten zu unterstützen. Eine derartige medikamentöse Stützung setzt einen Rest von Organfunktion voraus. In einigen Fällen kann durch eine Substitutionstherapie der völlige Ausfall eines Organs überbrückt werden. Ein klassisches Beispiel hierfür ist die Transplantation von Kälberhypophysen bei Simmondsscher Kachexie. Aber schon bei der Insuffizienz des Herzens, geschweige denn der eines anderen Organs, ist die Innere Medizin an ihren Grenzen angelangt. Hier beginnt die große, in die Zukunft weisende Aufgabe der modernen Chirurgie. Das Herz kann bereits durch eine eingebaute mechanische Kunststoffpumpe ersetzt werden. Doch dieses künstliche Organ weist große Nachteile gegenüber dem von der Natur gegebenen Vorbild auf. Fast undenkbar ist der Nachbau der Niere, deren Funktion kompliziert wird durch das Zusammenwirken von physikalischen und chemischen Mechanismen. Die "künstliche Niere" stellt einen aufwendigen Ersatz dar. Der Ausfall der Leber, des zentralen Stoffwechselorgans, bedeutet schließlich den Tod des gesamten Organismus. Derart verwickelt aufgebaute Organe sind durch künstliche Nachbildungen vorläufig nicht zu ersetzen. Man greift daher zu funktionstüchtigen Organen von gesunden Menschen oder Tieren, um sie auf kranke Menschen zu übertragen.

Nach der Auswahl der Spender unterscheidet man drei Arten von Transplantatgeweben: autologe stammen vom Empfänger selbst; heterologe werden zwischen verschiedenen Species ausgetauscht; homologe werden auf artgleiche Individuen übertragen. Autologe Transplantate heilen ohne Komplikation ein, dagegen werden homologe und besonders heftig heterologe abgestoßen. Transplantate stellen individualspezifische Antigene (T-Antigene) dar (vgl. Literaturverzeichnis Nr. 10, 52, 59). Diese sind genetisch festgelegt. So können zwischen eineiigen Zwillingen Organe erfolgreich ausgetauscht werden. Eine Abstoßungsreaktion bleibt aus, weil

Spender und Empfänger homogenetisch sind. Gegen die T-Antigene werden verschiedene humorale Iso-Antikörper gebildet (37). Das Transplantat ist dicht infiltriert mit Rundzellen, unter denen die kleinen Lymphozyten dominieren (2, 3, 4, 10, 24, 41, 46, 66, 72 u.a.). Sie sind spezifisch gegen das fremde Gewebe sensibilisiert, d.h. sie tragen zellständige Antikörper. Man bezeichnet eine solche Immunreaktion als "Allergie vom verzögerten Typ". Die immunkompetenten kleinen Lymphozyten sind, nachdem sie durch ein noch unbekanntes Überträgersystem die Information zur Antikörperbildung erhalten haben (13, 14, 82), zuerst im regionalen Lymphknoten, später im Transplantat und im gesamten lymphatischen System nachweisbar (41).

Die Erkenntnis, daß immunologische Vorgänge für die Mißerfolge bei Organtransplantationen verantwortlich sind, hat Möglichkeiten gezeigt, wie ein Transplantat wenigstens für einen begrenzten Zeitraum zur Einheilung gebracht werden kann. Ein homologes Transplantat kann einheilen, wenn der Empfänger tolerant gemacht worden ist. Man kann eine spezifische Immuntoleranz einem bestimmten Spender gegenüber erreichen, wenn man Tieren perinatal, also zu einem Zeitpunkt, in dem das immunologische System noch unreif ist, Gewebsantigene eines Spenders injiziert (10, 64, 68). Diese Möglichkeit oder die unmittelbar postnatale Thymektomie, die eine Unterentwicklung des lymphatischen Systems zur Folge hat (20, 36), scheiden für die medizinische Praxis aus. Dagegen werden verschiedene Methoden der Immunsuppression angewendet, wobei der Immunmechanismus an irgendeiner Stelle unterbrochen wird. Das ist für einen begrenzten Zeitraum möglich. Mit einem Antibiotikum, wie Actinomycin C, mit Purinantimetaboliten, Folsäureantagonisten (15, 39, 71, 79, 80, 98) und vielleicht auch Cortison kann man durch einen direkten Eingriff in den Zellstoffwechsel die nach dem Antigenkontakt einsetzende Proliferation immunkompetenter lymphatischer Zellen verhindern. Durch ein Lymphozytenantiserum läßt sich die Lymphozytenzahl kurzzeitig so stark vermindern, daß die immunologische Abwehr des Empfängers herabgesetzt wird (77). Ionisierende Strahlen kann man an drei verschiedenen Stellen der Immunreaktion einsetzen: unmittelbar am Transplantat (53, 63), am gesamten lymphatischen System (94) durch Ganzkörperbestrahlung (21, Übersicht bei 47) und isoliert am Blut (5) durch extrakorporale Bestrahlung (17, 18, 19, 57, 69). Die Bestrahlung vermindert in jedem Fall immunkompetente Zellen entweder am Ort

der Produktion im lymphatischen System oder auf dem Weg zum Transplantat oder im Transplantat selbst.

Es ist unbekannt, ob die Immunsuppression durch ionisierende Strahlen auf einer vorübergehenden Schädigung des ganzen lymphatischen Systems (Literaturübersicht bei 45) oder auf einer mehr oder weniger isolierten Zerstörung der immunkompetenten Lymphozyten und ihrer Vorstufen beruht. Über den Anteil immunkompetenter Zellen an der Gesamtzahl der Lymphozyten gehen die Meinungen weit auseinander: Prendergast (72) gibt einen Prozentsatz von 0,2 spezifisch gegen ein Transplantat gerichteter immunkompetenter Lymphozyten an. Gowans (41) vermutet bei 5 % der kleinen Lymphozyten eine Immunkompetenz, Najarian und Feldman (66) wenige Promille. Diese Daten beziehen sich auf spezifisch gegen einen Antigenkomplex sensibilisierte Zellen. Ein Maß für die immunologische Reaktionsfähigkeit der Lymphozyten soll auch ihre Transformation in vitro bei bestimmten Reizungen sein. Bei Kontakt mit Tuberkulin reagieren 22 % (67), mit homologen Lymphozyten 65 % (49) und mit Phytohämagglutinin 76 bis 82 % (49, 67).

Um der Entscheidung näher zu kommen, ob die Gruppe immunkompetenter Lymphozyten stärker strahlenempfindlich ist als die nicht-immunkompetenten Lymphozyten, könnten folgende Untersuchungen durchgeführt werden:

a) Direkter Nachweis der immunkompetenten Lymphozyten vor und nach der Bestrahlung im Vergleich mit den nicht-immunkompetenten Lymphozyten (38). Diese Methode ist nicht anwendbar, weil eine morphologische Erkennung oder funktionelle Isolierung der immunkompetenten Lymphozyten bis jetzt nicht möglich ist.

b) Prüfung, ob die bisher möglichen morphologischen Differenzierungen der Lymphozyten in verschiedene Gruppen Zelltypen erkennen lassen, die sich nach Bestrahlung unterschiedlich verhalten. Die Lymphozyten sind keine einheitliche Zellpopulation, weder im lymphatischen Gewebe, in dem es zwei verschiedene Arten gibt je nach der Anzahl der Nukleolen und der Stärke der Zytoplasmabasophilie (43), noch im peripheren Blut, in dem eine ähnliche Einteilung möglich ist (44, 87). Weiter kann man durch die Anfärbung eines Reaktionsproduktes der unspezifischen Esterase in Lymphozyten hochaktive von schwachaktiven Zellen unterscheiden (65). Wiseman (96) teilte die Lymphozyten mit Hilfe der May-Grünwald-Giemsa-Färbung je nach dem Grad der Zytoplasmabasophilie in drei Typen ein.

c) Korrelierung des Verhaltens der verschiedenen Lymphozytengruppen mit der Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit nach Bestrahlung.

Weiter erscheint die Frage interessant, ob man im peripheren Blut Zellen erfassen kann, die einerseits durch den Antigenreiz eines homologen Transplantats vermehrt und andererseits durch Röntgenstrahlen vermindert werden.

Im folgenden soll mit herkömmlicher Färbemethode im peripheren Blut untersucht werden, ob

a) bei Ganzkörperbestrahlung mit verschiedenen Dosen ein Lymphozytentyp besonders empfindlich reagiert;

b) ein Lymphozytentyp bei der extrakorporalen Bestrahlung elektiv getroffen wird;

c) bei beiden Versuchsanordnungen Lymphozyten gefunden werden, die für ein zuvor bzw. nachher gesetztes Hauttransplantat immunkompetent sind;

d) subkutan injiziertes homologes Nierengewebe einen stärkeren Antigenreiz als ein oberflächliches Hauttransplantat darstellt, ob also auf ein Nierentransplantat hin mehr immunkompetente Lymphozyten gebildet werden und ein Typ sich signifikant vermehrt.

MATERIAL UND METHODEN

39 junge, 260 bis 320 g schwere Sprague-Dawley-Ratten wurden verwendet. Als Nahrung erhielten sie Altromin (Fa. Alterogge) und Wasser ad libidum. Dem Trinkwasser frisch bestrahlter Tiere wurde Tetracyclin (160 mg Reverin - Farbwerke Höchst, Frankfurt/M - auf 1 Liter Wasser) 6 Tage lang zugesetzt, bis die akute Infektionsgefahr nach der Strahlenbelastung vorüber war.

GANZKÖRPERBESTRAHLUNG

Die Tiere wurden intraperitoneal mit Chloralhydrat (36 mg pro 100 g Körpergewicht) narkotisiert. 12 Tiere wurden mit 500 R (Röntgenstrahlen 250 KV, 20 mA, o,5 mm Kupferfilter, Dosimetrie mit Siemensdosimeter) und 5 Tiere mit 550 R bestrahlt.

EXTRAKORPORALE BESTRAHLUNG

Die Tiere wurden wie oben angegeben narkotisiert. Die A.carotis wurde freipräpariert, durch Zug an zwei Fäden komprimiert und durch einen Einschnitt eröffnet. In die Arterie wurde zentralwärts Heparin (500 Einheiten pro 100 g Körpergewicht) injiziert und ein etwa 0,5 mm weites Polyäthylenröhrchen eingeführt. Der periphere Arterienstumpf wurde verschlossen. Auf das Kunststoffröhrchen war ein etwas weiterer Polyäthylenschlauch aufgesteckt, der in zwei sich deckende Windungen gelegt wieder in einem engen Röhrchen endete, das in die V. jugularis interna eingeführt wurde. An das Schlauchsystem war im Nebenschluß eine 5 ccm-Spritze angeschlossen. Diese und der ganze Schlauch waren mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt. Die Durchflußzeit des Blutes durch das Schlauchsystem variierte zwischen 17 und 34 sec. Bei 8 Tieren wurde der Shunt 20 min ohne Bestrahlung belassen. 14 Tiere wurden mit Bleiplatten abgedeckt, und der Kunststoffshunt 20 min mit 1000 R bestrahlt (genaue Berechnung siehe bei Pichlmaier). Nach dem Versuch wurde das Blut im Shuntsystem mit der im Nebenschluß liegenden Spritze in die Blutbahn zurückgepreßt, und Arterie und Vene wurden durch Ligatur verschlossen. Die Tiere zeigten auf Grund der einseitigen Karotisunterbindung leichte Hemiplegiesymptome, die nach einigen Tagen verschwanden.

Weißen Sprague-Dawley-Ratten wurde homologes Hautgewebe von dunkelfarbenen Berlin-Druckrey IX-Ratten transplantiert. Die Transplantate waren rund mit einem Durchmesser von etwa 1,5 cm. Das Unterhautfettgewebe wurde vor dem Einsetzen entfernt. Zur Operationskontrolle wurde ein autologes Hautstück auf die Gegenseite verpflanzt.

Ganzkörperbestrahlten Tieren wurde das Transplantat einen Tag nach der Bestrahlung übertragen. Von 12 Tieren trugen 6 Transplantate.

7 extrakorporal bestrahlte Tiere erhielten das Transplantat 4 Tage vor der Bestrahlung. Dieser Zeitpunkt wurde empirisch als am günstigsten für eine Transplantatverlängerung gefunden (s. S. 53).

Die homologen Hauttransplantate wurden täglich auf Nekrosezeichen untersucht. Die Nekrose ist an einer Braun-schwarz-Färbung und Eintrocknung der transplantierten Haut feststellbar. Sie wird durch eine zelluläre Infiltration des Transplantats hervorgerufen, die 4 bis 6 Tage vor der äußerlich sichtbar werdenden Nekrose beginnt (2, 12a). Durch Subtraktion von 4 bis 6 Tagen vom Zeitpunkt der makroskopisch feststellbaren Nekrose läßt sich also bei normaler wie bei verzögerter Abstoßung der Beginn der eigentlichen immunologischen Abwehrreaktion errechnen. Darüber hinaus stellten wir den Zeitpunkt der vollständigen Abstoßung des nekrotischen Hautmaterials fest, die der Nekrose meist nach 8 bis 10 Tagen folgt.

Weißen Sprague-Dawley-Ratten wurde in einem weiteren Transplantationsversuch Nierengewebshomogenat von dunkelbraunen Berlin-Druckrey IX-Ratten unter die Rückenhaut injiziert. Die frisch exstirpierten Nieren wurden in physiologischer Kochsalzlösung mit Streptomycin (50 mg/l) durch ein feinmaschiges Stahlsieb gepreßt und suspendiert. Unter dem Mikroskop zeigte sich eine große Anzahl intakter Nierenepithelien. 1,5 ml der sehr zellreichen Nierenzellsuspension wurden jeder Ratte mit einer 3 mm-Kanüle an 4 benachbarten Stellen unter die Rückenhaut injiziert. So entstanden 4 subkutane Knoten. Insgesamt wurden 10 Tiere verwendet: 9 Tiere mit homologem Nierentransplantat, davon 4 Tiere ohne Bestrahlung und 5 Tiere mit 550 R-Bestrahlung einen Tag vor der Transplantation, außerdem ein nichtbestrahltes Tier mit isologem Nierengewebe. Die homologen Nierengewebs-

transplantate wurden täglich durch Palpation und ungefähre Größenbestimmung der subkutanen Knoten kontrolliert. Histologische Untersuchungen wurden nicht vorgenommen.

GEWINNUNG DER AUSSTRICHE

Blut für die Ausstriche wurde durch Punktion einer lateralen Schwanzvene gewonnen. Zur Weiterverarbeitung wurden nur gleichmäßig dünne Ausstrichpräparate ausgewählt, bei denen keine Zellen übereinander lagen. Nach Lufttrocknung wurden die Präparate einen Tag später in Methylalkohol fixiert und bis zum Ende des Versuchs im Dunkeln aufbewahrt. Mit der Blutabnahme wurde 4 bis 5 Tage vor der Bestrahlung begonnen. Drei Kontrollabnahmen bildeten den Ausgangswert. Die extrakorporal bestrahlten Tiere wurden 2, 3 und 4 Stunden nach der Bestrahlung und am 1., 3., 5. usw. Tag punktiert, ebenso die nicht bestrahlten Kontrolltiere. Den ganzkörperbestrahlten Ratten wurde vom 1. Tag an alle 2 Tage Blut abgenommen.

FÄRBEMETHODEN

May-Grünwald-Giemsa-Färbung (panoptische Färbung):

3 min Eosin-Methylenblau-Lösung,

2 min gepuffertes (ph 7,2) Aqua dest.,

20 min Giemsa-Lösung (5 ccm Stammlösung plus 95 ccm Aqua dest.),

gründliches Abspülen mit Aqua dest.

Die Zeiten wurden exakt eingehalten und alle Präparate wurden unter den gleichen Bedingungen gefärbt. Bei dieser Färbetechnik ist das Zytoplasma der Granulozyten und der hellen Lymphozyten gerade sichtbar getönt und das basophile Zytoplasma eines Teiles der Mononukleären leuchtend blau (96).

Methylenblau-Färbung:

15 min wäßrige Methylenblau-Lösung,

etwa 30 sec Zitratpuffer nach Sörensen (ph 4,96). Die genaue Pufferzeit muß empirisch festgestellt werden. Die Kerne sollten nur einen Hauch von Blau zeigen (87).

Unspezifische Naphtol-A-S-D-Chlorazetat-Esterase:

Azofarbstoffmethode (65).

Fixierung der nicht methanolfixierten Präparate:

30 sec bei 4 Grad C in Formol-Methanol (1:9), Spülung in fließendem Wasser, Trocknung an der Luft.

Inkubation:

30 min bei Zimmertemperatur in einem Gemisch von 100 mg

Naphtol-A-S-D-Chlorazetat in 5 ml Azeton, 50 ml Aqua bidest., 100 mg Echtgranatsalz GBC, 50 ml 0,1 mol Veronalnatrium-Puffer nach Michaelis ph 7,4 (30 ml 0,1 mol Veronalnatriumlösung, 21 ml 0,1 n Salzsäure, 10 ml Aqua bidest.). Spülung unter fließendem Wasser, Lufttrocknung. Gegenfärbung 8 min mit Hämalaun nach Mayer. Wässerung 20 min.

ZELLDIFFERENZIERUNG

Kleine Lymphozyten: Kerndurchmesser bis 7,5 µ.
Panoptische Färbung (Abb. 1): kleine hellplasmatische Lymphozyten: Kern von grober, verwaschener Chromatinstruktur, Zytoplasma hellblau bis wasserklar (extrem hellplasmatische Lymphozyten) mit feinen oder groben Azurgranula in wechselnder Anzahl; kleine basophile Lymphozyten: Kern mit Chromatinverdichtungen, Zytoplasma tiefbasophil mit perinukleärer Aufhellung.
Nukleolenfärbung (Abb. 2): mononukleoläre kleine Lymphozyten: ein runder Nukleolus im scharf begrenzten Kern, Zytoplasma hellblau; polynukleoläre kleine Lymphozyten: 2 bis 3 runde Nukleolen im scharf begrenzten Kern, Zytoplasma dunkelblau; mikronukleoläre kleine Lymphozyten: mehrere spitz ausgezogene, fädig verbundene, blau angefärbte Gebilde im unscharf begrenzten, meist gebuchteten Kern, Zytoplasma hellblau bis dunkelblau.
Unspezifische Esterasefärbung (Abb. 3): kleine, schwach aktive Lymphozyten: mit staubförmigen Granula über dem Zytoplasma; kleine hochaktive Lymphozyten: mit groben schwarzen Granula über dem Zytoplasma in wechselnder Zahl.
Mittelgroße Lymphozyten: Kerndurchmesser 7,5 µ bis 10,0 µ.
Panoptische Färbung: basophile, hellblaue und extrem helle Formen, wie oben beschrieben.
Große Lymphozyten: Kerndurchmesser größer als 10,0 µ.
Panoptische Färbung: basophile und extrem helle Zellen, wie oben beschrieben.
Lymphomonozyten (Lymphoidzellen): Kerndurchmesser größer als etwa 8 µ.
Panoptische Färbung: Kern von unregelmäßig grober, lymphatischer Struktur, gebuchtet; reichliches Zytoplasma von heller oder basophiler Farbe.
Monozyten: Kerndurchmesser größer als 10 µ.
Panoptische Färbung: Kern von weniger grober, oft retikulärer Struktur, meist gelappt oder gebuchtet. Zytoplasma taubengrau, manchmal auch blau.

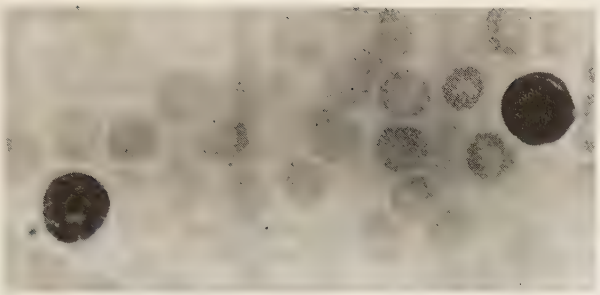

Abb.1: Kleine Lymphozyten. Panoptische Färbung. Links ein extrem hellplasmatischer Lymphozyt mit angedeuteten Azurgranula, rechts ein typischer basophiler Lymphozyt.

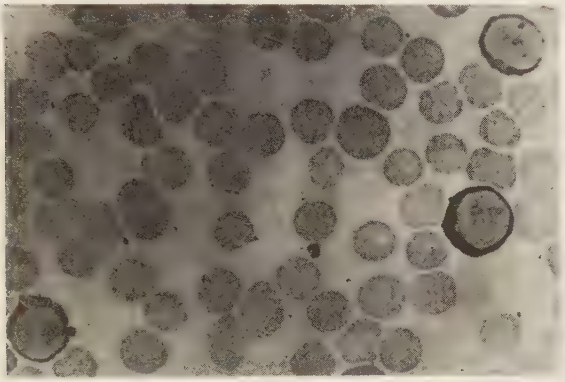

Abb.2: Kleine Lymphozyten. Nukleolenfärbung. Links unten ein mononukleolärer, rechts unten ein polynukleolärer und rechts oben ein mikronukleolärer kleiner Lymphozyt.

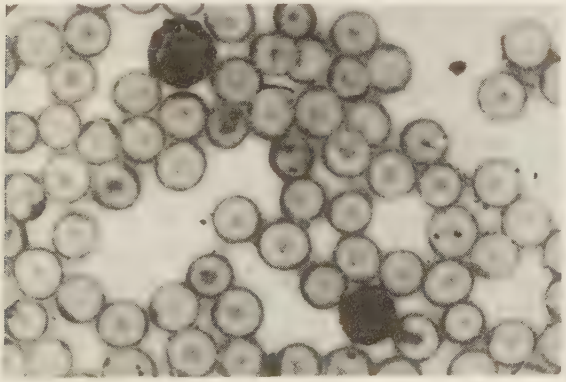

Abb.3: Kleine Lymphozyten. Unspezifische Esterasefärbung. Links oben ein hochaktiver und rechts unten ein schwachaktiver kleiner Lymphozyt.

E R G E B N I S S E

Zunächst soll ein Überblick über die weißen Blutzellen gesunder Sprague-Dawley-Ratten gegeben werden. Die folgenden Durchschnittswerte sind von den 12 Ratten gewonnen, die später mit 500 R bestrahlt wurden. Sie geben direkt die Menge der einzelnen Zellen im Kubikmillimeter des venösen Blutes wieder.

Kleine Lymphozyten: ca 15000, davon ca 10000 hellplasmatisch, ca 5000 basophil; Verhältnis 2 : 1
mittelgroße L. : ca 5000, davon ca 2500 hellplasmatisch, ca 2500 basophil; Verhältnis 1 : 1
große Lymphozyten : ca 1200, davon ca 600 hellplasmatisch, ca 600 basophil; Verhältnis 1 : 1
Lymphomonozyten : ca 1000
Monozyten : ca 1700
Granulozyten : ca 2200 neutrophil, ca 400 eosinophil.

Die Kerne kleiner und mittelgroßer Lymphozyten sind meist rund, seltener oval oder bohnenförmig. Kernabsprengungen kommen fast nie vor. Etwa 20 % der kleinen hellplasmatischen Lymphozyten haben ein extrem helles, 80 % dagegen ein verwaschen hellgraues bis schwach basophiles Zytoplasma. Von den kleinen hellplasmatischen Lymphozyten sind durchschnittlich 40 % fein, von den mittleren hellplasmatischen 30 % fein oder grob und von den großen hellplasmatischen 50 % grob granuliert. In basophilen Lymphozyten sind nur selten Azurgranula zu finden.

GANZKÖRPERBESTRAHLUNG 500 R

Panoptische Färbung: Die Veränderungen der Lymphozyten nach Ganzkörperbestrahlung betreffen den Kern, die Zytoplasmaanfärbbarkeit und die Azurgranulation. In den ersten Tagen nach Bestrahlung sind die Kerndurchmesser etwa um 1 µ größer. Die Kerngrenzen sind oft unscharf. Das Zytoplasma heller Lymphozyten ist grau und enthält grobe Azurgranula.

In der Regenerationsphase erscheinen bei allen Größenklassen mißgestaltete, unrunde Kerne gehäuft zwischen dem 16. und dem 26.

Tag, wobei das Maximum am Anfang liegt. Kernabsprengungen sieht man ebenfalls zwischen dem 16. und dem 26. Tag. Das Maximum liegt hier am 25. Tag. Doppelkernige Lymphozyten, die gewöhnlich zu 1 % vorkommen, sind bis zum 26. Tag auf 6 % vermehrt. Die mittelgroßen hellen Lymphozyten bleiben bis zum 12. Tag grob granuliert; ähnlich die großen.

Sämtliche kleine hellplasmatische Lymphozyten in der Regenerationsphase gehören zu den extrem hellen Formen mit den charakteristischen feinen Azurgranula (Abb. 1). Helle Lymphozyten mit graubläulichem Zytoplasma erscheinen erst nach etwa 8 Wochen wieder.

Kleine Lymphozyten (Abb. 5): Sie zeigen ein Minimum von 10 % 3 Tage nach Bestrahlung. Bei allen 12 Tieren herrscht einheitlich eine Lymphopenie von 90 bis 95 % vor. Die Streuung, die anfangs minimal ist, wird erheblich größer in der Regeneration. Die ersten Tiere erreichen den Ausgangswert am 11. Tag, die letzten noch nicht am 21. Tag. Die Summenkurve, in der alle Lymphozyten mit der Kerngröße bis 7,5 µ enthalten sind, wird nach den Zytoplasmakriterien hell und basophil zerlegt und ergibt folgendes Bild:

Kleine hellplasmatische Lymphozyten (Abb. 4): Sie sind am stärksten reduziert. Das Minimum erstreckt sich über 5 Tage. Mit dem Größerwerden der Streuung beginnt eine heftige, später überschießende Reaktion, die bei einigen Tieren jedoch verzögert ist; daher die quadratische Abweichung von 50 %.

Kleine basophile Lymphozyten (Abb. 4): Die Regeneration setzt bereits am 3. Tag ein, bleibt aber vom 7. Tag an konstant auf 70 %. Abbildung 6 gibt diese Verschiebungen direkt wieder: Bei normalen Sprague-Dawley-Ratten treffen auf einen kleinen basophilen Lymphozyten zwei helle, einen Tag nach Bestrahlung ein heller, 5 Tage nach Bestrahlung 0,25, später 4 helle kleine Lymphozyten.

Zusammenfassend ergibt sich a) eine etwas geringere Verminderung von kleinen basophilen, b) eine um 2 Tage früher einsetzende Vermehrung der kleinen basophilen, die den Ausgangswert sehr viel später erreichen, c) eine Hyperregeneration der kleinen hellen.

Mittelgroße helle Lymphozyten (Abb.7): Sie sind 7 Tage lang um etwa 90 % vermindert und streben von da an kontinuierlich auf den Normalwert zu.

Mittelgroße basophile Lymphozyten (Abb. 7): Sie vermehren sich vom 3. Tag an rasch auf 80 %. Um diesen Wert pendeln sie längere Zeit.

Ein Vergleich dieser beiden gleich großen Zelltypen zeigt a) eine unsignifikant geringere Verminderung von mittleren basophilen, b) eine um 4 Tage früher einsetzende Vermehrung von mittelgroßen basophilen, die lange auf 80 % bleiben.

Große helle Lymphozyten (Abb. 8): Sie werden vom 7. Tag an wieder häufiger und sind am 21. Tag auf 90 % des Ausgangswertes angelangt.

Große basophile Lymphozyten (Abb. 8): Sie unterschreiten nie 20 % des Ausgangswertes, regenerieren vom 3. Tag an und erreichen am 9. Tag den Normalwert. Unter den großen Lymphozyten sind also die basophilen weniger stark vermindert und regenerieren früher als die hellen.

Lymphomonozyten (Abb. 9): Ein Minimum erstreckt sich über die ersten 5 Tage nach Bestrahlung. Diese Zellen erreichen während der ganzen Beobachtungsdauer nicht wieder ihre normale Anzahl.

Monozyten (Abb. 9): Sie werden durch die Bestrahlung 3 Tage lang auf 15 % reduziert, steigen dann bis zum 9. Tag auf 70 % und bleiben bis zum 21. Tag auf diesem Niveau.

Große Mononukleäre (Abb. 10): Große basophile und helle Lymphozyten, Monozyten und Lymphomonozyten werden zusammengefaßt, um einen Übersichtsvergleich großkerniger mit kleinkernigen mononukleären Zellen zu ermöglichen. Diese Summenkurve verläuft im wesentlichen parallel zur Kurve der kleinen basophilen Lymphozyten.

Granulozyten (Abb. 11): Neutrophile, polymorphkernige Zellen vermindern sich langsam im Verlauf von 3 Tagen um 50 %. In der Folgezeit werden sie stark überschießend ausgeschwemmt. Die eosinophilen Granulozyten verschwinden 7 Tage lang aus dem Blut und erscheinen nur vorübergehend zwischen dem 9. und dem 15. Tag.

Zusammenfassung der Ergebnisse der panoptischen Färbung:
a) Hellplasmatische Lymphozyten sind einheitlich 7 Tage lang um 90 % vermindert. Je größer die Zelle, desto länger braucht sie,

um den Ausgangswert wieder zu erreichen.

b) Basophile Lymphozyten sind weniger stark reduziert als die hellen und untereinander umso weniger, je größer der Kern ist. Sie vermehren sich früher als die hellplasmatischen. Die großen regenerieren vor den mittelgroßen und diese vor den kleinen.

c) Die kleinen basophilen Lymphozyten sind in den ersten drei Wochen nach der Bestrahlung anhaltend vermindert, weniger stark die mittelgroßen und noch weniger die großen.

d) Monozyten verhalten sich ähnlich wie basophile Lymphozyten, Lymphomonozyten eher wie helle Lymphozyten.

Nukleolenfärbung : Mikro- und makronukleoläre kleine Lymphozyten (Abb. 12) verhalten sich gleich. Eine Trennung ist nicht möglich. Die Kurve der makronukleolären enthält mononukleoläre und polynukleoläre Zellen. Auf eine Darstellung der Kurven kann verzichtet werden, weil die mononukleolären mit den hellen Lymphozyten identisch sind und die polynukleolären mit den kleinen basophilen.

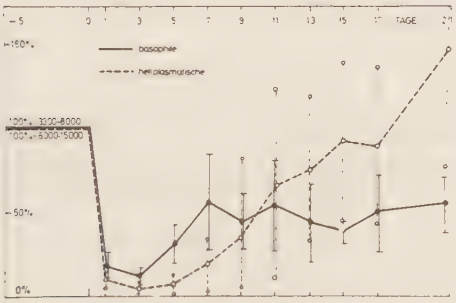

Abb. 4: Ganzkörperbestrahlung 500 R
Kleine basophile und hellplasmatische Lymphozyten.

Erklärung zu dieser und den folgenden Abbildungen: Auf der Abszisse ist die Zeit in Tagen aufgetragen. Am Tag 0 hat die Bestrahlung stattgefunden. Auf der Ordinate sind die prozentualen Änderungen des jeweiligen Zelltyps nach Bestrahlung abzulesen. Der Ausgangswert, der gleich 100 % gesetzt ist, stellt das arithmetische Mittel von 3 Blutabnahmen vor der Bestrahlung dar. Der Schwankungsbereich der absoluten Zahlen des jeweiligen Zelltyps vor Bestrahlung ist angegeben (hier z.B. bei den kleinen basophilen Lymphozyten 3300 bis 8000/cmm). Die vertikalen Linien sollen das Ausmaß der Standardabweichung (±s) andeuten, die nach folgenden Formeln berechnet wird: a) $\pm s = \sqrt{s^2}$ b) $s^2 = \frac{\sum x^2}{n-1}$

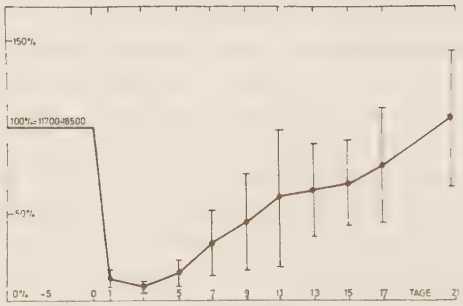

Abb. 5: Ganzkörperbestrahlung 500 R: Kleine Lymphozyten (basophile und hellplasmatische addiert)

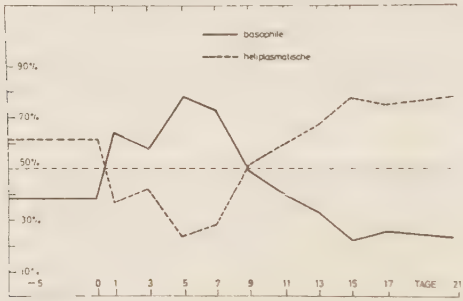

Abb. 6: Ganzkörperbestrahlung 500 R: Verhältnis der hellplasmatischen und basophilen kleinen Lymphozyten zueinander

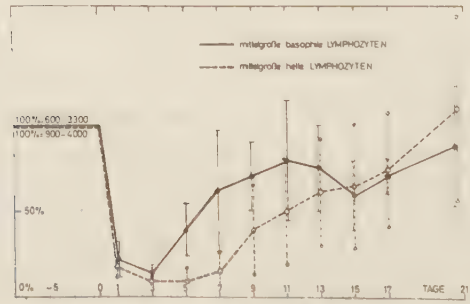

Abb. 7: Ganzkörperbestrahlung 500 R: Mittelgroße hellplasmatische und basophile Lymphozyten

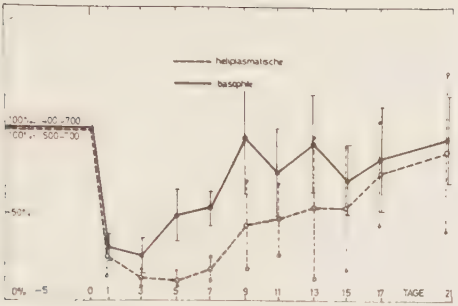

Abb. 8: Ganzkörperbestrahlung 500 R: Große hellplasmatische und basophile Lymphozyten

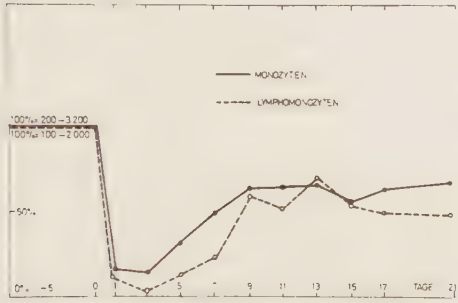

Abb. 9: Ganzkörperbestrahlung 500 R: Monozyten und Lymphomonozyten

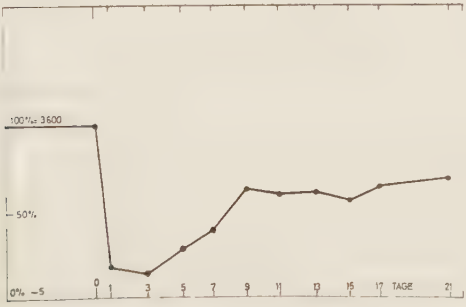

Abb. 10: Ganzkörperbestrahlung 500 R: Große Mononukleäre: Große hellplasmatische und basophile Lymphozyten, Monozyten und Lymphomonozyten addiert

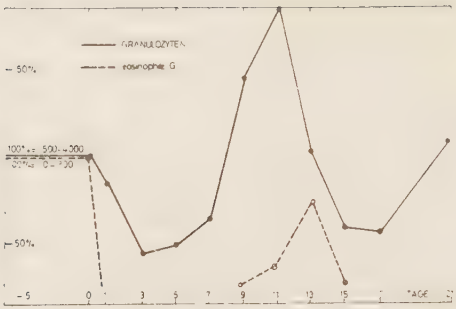

Abb. 11: Ganzkörperbestrahlung 500 R: Neutrophile und eosinophile Granulozyten

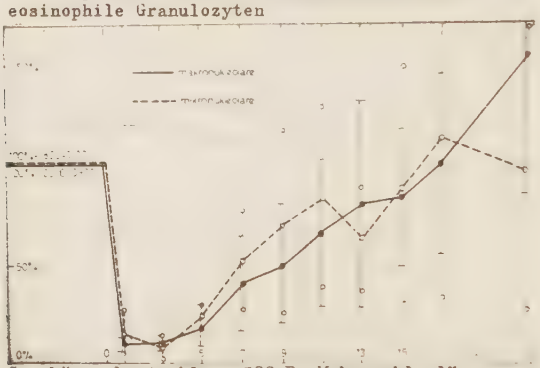

Abb. 12: Ganzkörperbestrahlung 500 R: Makronukleoläre und mikronukleoläre kleine Lymphozyten

GANZKÖRPERBESTRAHLUNG 550 R

Morphologische Veränderungen an Zellkernen und Zytoplasma, wie sie nach der Bestrahlung mit 500 R beobachtet wurden, treten auch hier auf. Die Zeiträume sind jedoch verlängert.

Panoptische Färbung:

Kleine Lymphozyten (Abb. 13) fehlen einen Tag nach Bestrahlung fast völlig. Bis zum 6. Tag bleiben sie konstant bei 3 %, um dann allmählich im Laufe von 36 Tagen wieder den Ausgangswert zu erreichen. Eine Trennung nach den Kriterien der Zytoplasmabasophilie zeigt, daß die
kleinen hellen Lymphozyten (Abb. 14) sich vom 8. Tag an je nach Tier unterschiedlich schnell vermehren, im Gegensatz zu den

kleinen basophilen Lymphozyten (Abb. 14), die vom 6. Tag an vermehrt ausgeschwemmt werden, jedoch 5 Wochen lang auf die Hälfte vermindert bleiben und dann erst auf den Normalwert zustreben. Die basophilen Formen sind den hellen zwar um zwei Tage voraus, vermehren sich aber in der Folgezeit wesentlich langsamer als jene.

Mittelgroße helle Lymphozyten (Abb. 15) steigen nach einem Abfall auf ca 5 % in den ersten 17 Tagen stetig an, bleiben dann 3 Wochen lang auf einem Wert um 60 % und sind daraufhin sehr schnell wieder in normaler Anzahl vorhanden.

Mittelgroße basophile Lymphozyten (Abb. 15) verhalten sich sehr ähnlich. Sie steigen plötzlich in der 7. Woche nach Bestrahlung an.

Große helle Lymphozyten (Abb. 16) bleiben 10 Tage auf 10 bis 20 % reduziert, durchlaufen in der 3. Woche ein relatives Maximum, erreichen aber während der ganzen Beobachtungsdauer den Ausgangswert nicht wieder.

Große basophile Lymphozyten (Abb. 16) sind nur am ersten Tag auf ca 15 % abgesunken und haben sich bereits am 2. Tag auf 30 % vermehrt, am 5. Tag auf 130 %. Danach schwanken sie erheblich. Eine Verdoppelung ihrer normalen Konzentration erfahren sie 6 Wochen nach Bestrahlung. Große basophile Lymphozyten regenerieren also intensiver und früher als die großen hellplasmatischen.

Lymphomonozyten (Abb. 17) verschwinden am 5. Tag völlig aus dem Blut, tauchen dann jedoch rasch wieder auf. Am 12. Tag ist der Verlust fast ausgeglichen. Von der 3. Woche an sind sie um 160 % vermehrt gegenüber der Norm.

Monozyten (Abb. 17) sind bis zum 3. Tag auf ca 20 % vermindert, erreichen einen Gipfel von 170 % am 7. Tag, ein relatives Minimum am 10. Tag und später ein neues Maximum, das sich über mehrere Wochen erstreckt.

In der Kurve der großen Mononukleären (Abb. 18) werden alle großkernigen mononukleären Zellen zusammengefaßt. Ein Vergleich mit den kleinen mononukleären Zellen ergibt ein wesentlich früheres Ansteigen der großen Zellen.

Granulozyten (Abb. 19): Neutrophile, polymorphkernige Zellen werden bis zum 2. Tag vermehrt ausgeschüttet. Am 5. Tag halten sich praktisch keine Granulozyten mehr im Blut auf. Sie werden dann aber rasch wieder zahlreicher und erreichen ein Maximum am 17. Tag. Danach sind sie lange Zeit vermehrt. Vom 14. Tag an tritt eine Eosinophilie auf.

Zusammenfassung:

a) Hellplasmatische Lymphozyten sind einheitlich in der ersten Woche um 90 % reduziert. Je größer die Zelle, desto länger braucht sie um den Ausgangswert wieder zu erreichen.

b) Basophile Lymphozyten sind etwa gleich stark wie hellplasmatische vermindert, die großen jedoch weniger als die kleinen und mittleren. Sie vermehren sich vor den hellplasmatischen. Die großen regenerieren vor den mittelgroßen und diese vor den kleinen.

c) Mittelgroße und kleine basophile erreichen später als die hellplasmatischen den Ausgangswert.

d) Monozyten verhalten sich ähnlich wie die großen basophilen Lymphozyten und die Granulozyten; Lymphomonozyten eher wie große helle Lymphozyten.

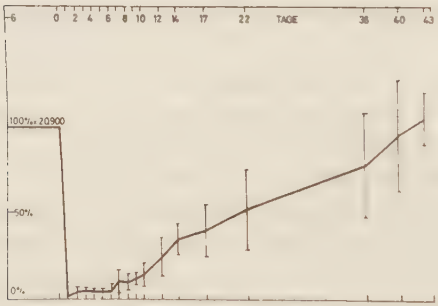

Abb. 13: Ganzkörperbestrahlung 550 R: Kleine Lymphozyten (hellplasmatische und basophile addiert)

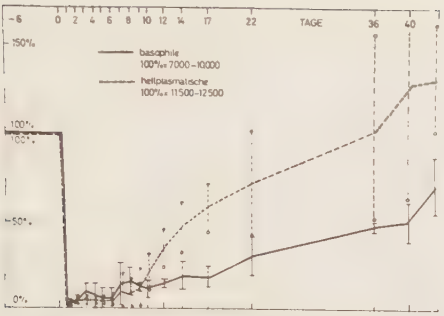

Abb. 14: Ganzkörperbestrahlung 550 R: Kleine hellplasmatische und basophile Lymphozyten

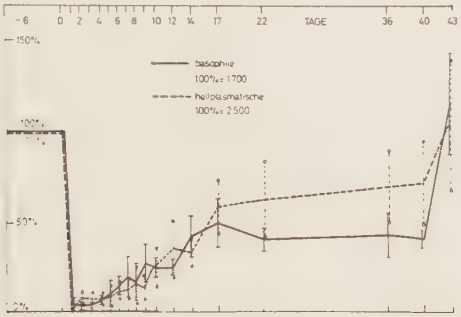

Abb. 15: Ganzkörperbestrahlung 550 R: Mittelgroße hellplasmatische und basophile Lymphozyten

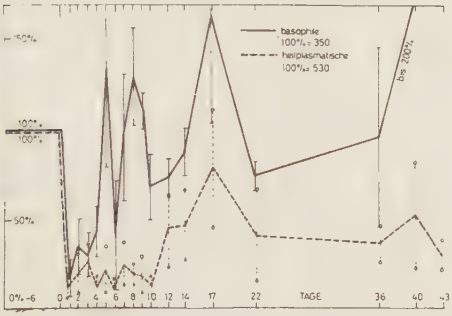

Abb. 16: Ganzkörperbestrahlung 550 R: Große hellplasmatische und basophile Lymphozyten

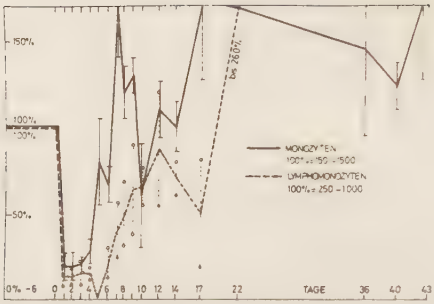

Abb. 17: Ganzkörperbestrahlung 550 R: Monozyten und Lymphomonozyten

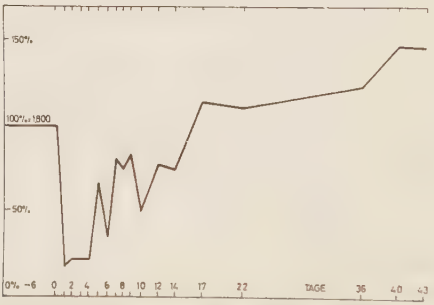

Abb. 18: Ganzkörperbestrahlung 550 R: Große Mononukleäre: Große hellplasmatische und basophile Lymphozyten, Lymphomonozyten und Monozyten

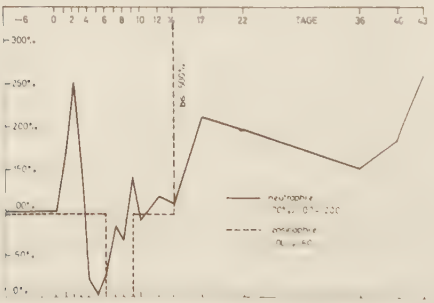

Abb. 19: Ganzkörperbestrahlung 550 R: Neutrophile und eosinophile Granulozyten

Operationseffekt: In den panoptisch gefärbten Blutausstrichen der nichtbestrahlten, nur operierten Tiere fällt 2 bis 3 Stunden nach der Operation auf, daß vereinzelt die Kerne kleiner Lymphozyten pyknotisch verändert oder in unregelmäßige, stark anfärbbare Trümmer zersprengt sind. Diese zerstörten Zellen sind meist hellplasmatisch.

Die Gesamtheit der kleinen Lymphozyten (Abb. 20) vermindert sich um 30 % auf Grund des größeren Anteils der hellplasmatischen Formen. Die kleinen hellplasmatischen Lymphozyten (Abb. 21) sinken um 40 % des Ausgangswertes ab, während die kleinen basophilen Lymphozyten (Abb. 22) nur um etwa 10 % vermindert werden. Schon am nächsten Tag ist der Ausgangswert wieder erreicht und wird am 4. bis 5. Tag überschritten. Empfindlicher reagieren die mittelgroßen Lymphozyten. Erst 5 Tage nach dem Eingriff sind sie auf dem Ausgangsniveau, das die hellplasmatischen mittelgroßen Lymphozyten (Abb. 24) langsam und nur geringfügig überschreiten, während die mittelgroßen basophilen (Abb. 25) nach 6 Tagen wieder abzusinken beginnen. Die großen mononukleären Zellen (Abb. 26) verhalten sich nur scheinbar wie die kleinen Lymphozyten. Diese Gruppe setzt sich aus 4 verschiedenen Zelltypen zusammen, von denen hier nur ein einziger wie die Summenkurve reagiert, nämlich der große helle Lymphozyt (Abb. 27). Sein morphologisches Gegenstück, die große basophile mononukleäre Zelle (Abb. 28) erreicht erst nach 6 Tagen, der Lymphomonozyt (Abb. 29) nach 5 Tagen das Ausgangsniveau. Die Monozyten (Abb. 30) sind einen Tag lang um die Hälfte vermindert und liegen an den folgenden Tagen wieder im Normbereich. Die Granulozyten (Abb. 31) übertreffen 2 Stunden nach der Operation den Ausgangswert um das Fünffache und bleiben dann bis zum 9. Tag in wechselndem Ausmaß erhöht.

Zusammenfassend kann man sagen: Die Konzentration basophiler Lymphozyten im Blut wird durch den Operationseffekt weniger vermindert als die Konzentration heller Lymphozyten, und unter den basophilen die Konzentration der großen und mittelgroßen stärker als die der kleinen.

Bestrahlungseffekt: Die extrakorporale Bestrahlung hat eine wesentlich intensivere Wirkung als die Operation. Fast alle hellplasmatischen Lymphozyten, seien sie nun groß, mittelgroß oder klein, weisen 3 Stunden nach Bestrahlung Azurgranula auf,

die am nächsten Tag weniger werden. Die Zellen der nur operierten Kontrolltiere sind nicht häufiger als üblich granuliert. Eindeutig helle Lymphozyten fehlen 3 Stunden nach dieser Art der Bestrahlung. Der Zelleib ist graubläulich angefärbt. Pyknosen treten häufig auf, dagegen keine Kernanomalien. In der späteren, überschießenden Regenerationsphase findet man stark vermehrt extrem helle Lymphozyten mit feinen, spärlichen Azurgranula.

Verhalten der einzelnen Zelltypen:

Panoptische Färbung: Kleine Lymphozyten (Abb. 20) gehen auf durchschnittlich 55 % zurück. In 5 Tagen tritt der normale Zustand wieder ein. Die Differenzierung mit Hilfe der Zytoplasmaanfärbbarkeit zeigt, daß die kleinen hellplasmatischen Lymphozyten (Abb. 21) diese Schwankung hervorrufen. Zwei Stunden nach Shuntbestrahlung fehlen 60 % dieser Zellen. Der Verlust wird in 8 bis 9 Tagen ersetzt.

Die kleinen basophilen Lymphozyten (Abb. 22) sind 2 Stunden nach Bestrahlung um 30 % vermehrt. Die späteren Werte schwanken beträchtlich, sowohl hinsichtlich des Mittelwertes, als auch der Einzelergebnisse. Sie pendeln jedoch um den Normalwert.

Abbildung 23 erläutert eindrucksvoll die Verschiebung im Verhältnis hell zu basophil, das gewöhnlich 2 zu 1, unmittelbar nach Bestrahlung 1 : 2, einen Tag später 1 : 1 und weitere 6 Tage später wieder normal ist.

Mittelgroße helle Lymphozyten (Abb. 24) sinken um 75 % ab. Nach 9 Tagen ist ihre Anzahl im Blut wieder normal.

Mittelgroße basophile Lymphozyten (Abb. 25) sind 3 Tage lang um 25 % vermindert. Zwischen dem 5. und dem 9. Tag trifft man sie vorübergehend vermehrt an. Unter den mittelgroßen Lymphozyten sind also die basophilen um 50 % weniger stark reduziert als die hellplasmatischen.

Große helle Lymphozyten (Abb. 27) findet man 3 Tage lang halb so häufig wie gewöhnlich. Sie erreichen das Ausgangsniveau am 5. Tag.

Große basophile Lymphozyten (Abb. 28): Die Bestrahlung verändert nur unwesentlich ihre Konzentration.

Die Lymphomonozyten (Abb. 29) sinken 2 Stunden nach Bestrahlung um 75 % unter das Ausgangsniveau, auf dem sie nach 9 Tagen wieder

anlangen.

Monozyten (Abb. 30): Ein Viertel dieser Zellen bleibt im Blut. Einen Tag später sind fast alle verloren gegangenen Monozyten im Blut wieder ersetzt. Dieser Zustand hält nicht lange an. Erst vom 5. Tag an halten die Monozyten konstant ihren Normwert.

Die großen Mononukleären (Abb. 26) sind zu einer Kurve zusammengefaßt. Die Zahl der großen basophilen Lymphozyten wird durch die extrakorporale Bestrahlung kaum beeinflußt. Dagegen sind die großen hellen Lymphozyten und die Lymphomonozyten mehrere Tage lang reduziert. Die Monozyten verhalten sich ähnlich wie die

Granulozyten (Abb. 31) mit einem normalen Wert am ersten Tag, einem Minimum am 3. Tag und einem schnellen Ausgleich bis zum 5. Tag. Darüber hinaus tritt nach Bestrahlung und am 5. Tag eine Granulozytose auf.

Zusammenfassend kann man über die Ergebnisse der panoptischen Färbung sagen: Die extrakorporale Bestrahlung verändert nicht die Konzentration basophiler Lymphozyten im Blut, dagegen deutlich und anhaltend die Zahl hellplasmatischer Lymphozyten und Lymphomonozyten.

Nukleolenfärbung: Im Blut normaler Sprague-Dawley-Ratten werden 15 % mikronukleoläre kleine Lymphozyten gefunden. Die Gruppe der makronukleolären umfaßt durchschnittlich 40 % polynukleoläre und 60 % mononukleoläre Formen. Verfolgt man mit dieser Färbung die Konzentrationsänderungen der kleinen Lymphozyten durch die extrakorporale Bestrahlung des Blutes, so ergibt sich:
a) eine Bestätigung der panoptischen Färbung. Polynukleoläre kleine Lymphozyten reagieren wie die kleinen basophilen Lymphozyten. Die makronukleolären (Abb. 32) ergeben die gleiche Kurve wie die kleinen Lymphozyten der panoptischen Färbung (Abb. 20).
b) Die Zahl der mikronukleolären (Abb. 33) ist durch die Shuntoperation 3 Tage lang etwas herabgesetzt. Sie werden danach vorübergehend vermehrt ausgeschüttet.
c) Die Bestrahlung reduziert die mikronukleolären weiter bis auf 40 % und läßt sie während der Beobachtungszeit nicht wieder den Ausgangswert erreichen.

Esterasefärbung: Durch die Modifizierung der Esterasefärbung von Moloney e.a. (65) erhielten wir im normalen Rattenblut 35 %

schwachaktive und 65 % hochaktive kleine Lymphozyten. Hochaktive (Abb. 34) werden durch die Bestrahlung weniger stark reduziert als solche mit niedriger Aktivität (Abb. 35). Zum Ende des Versuchs tritt bei den Kontrolltieren (Abb. 35), denen lediglich ein Shunt angelegt wurde, eine Vermehrung der schwachaktiven Zellen auf, die bei den bestrahlten Tieren fehlt.

Abb. 20: Extrakorporale Bestrahlung: Kleine Lymphozyten. Die gestrichelte Linie gibt die Mittelwerte der nicht bestrahlten Kontrollratten wieder. 0 % trifft nur günstigeren Raumaufteilung meist nicht mit dem Schnittpunkt der Koordinaten zusammen

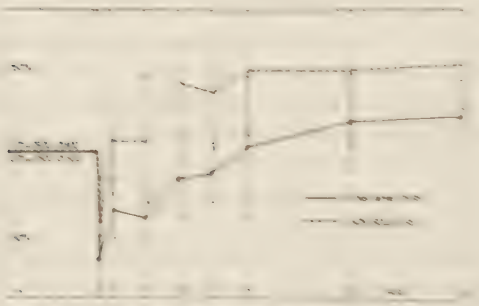

Abb. 21: Extrakorporale Bestrahlung: Kleine hellplasmatische Lymphozyten

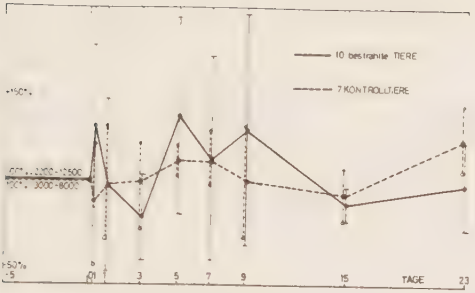

Abb. 22: Extrakorporale Bestrahlung: Kleine basophile Lymphozyten

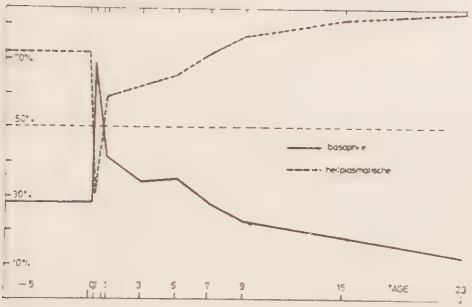

Abb. 23: Extrakorporale Bestrahlung: Verhältnis kleiner hellplasmatischer und basophiler Lymphozyten zueinander

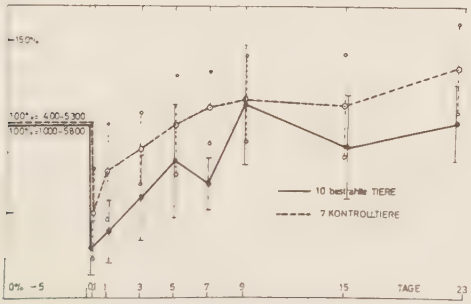

Abb. 24: Extrakorporale Bestrahlung: Mittelgroße hellplasmatische Lymphozyten

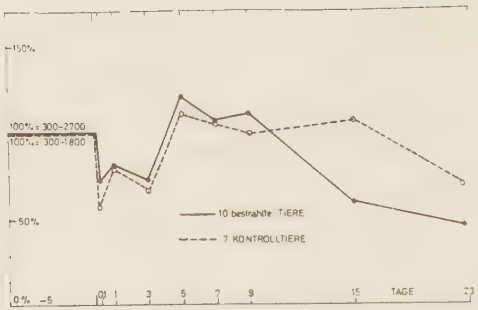

Abb. 25: Extrakorporale Bestrahlung: Mittelgroße basophile Lymphozyten

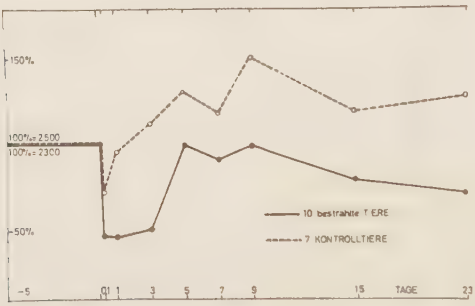

Abb. 26: Extrakorporale Bestrahlung: Große mononukleäre Zellen: Große basophile und helle Lymphozyten, Monozyten und Lymphomonozyten

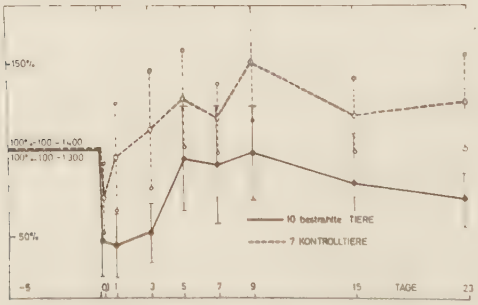

Abb. 27: Extrakorporale Bestrahlung: Große hellplasmatische Lymphozyten

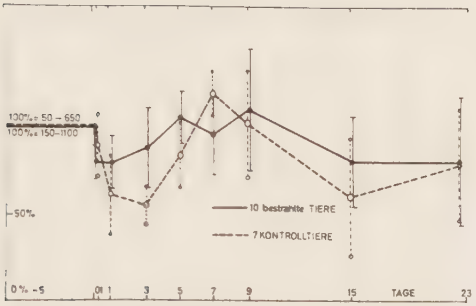

Abb. 28: Extrakorporale Bestrahlung: Große basophile Lymphozyten

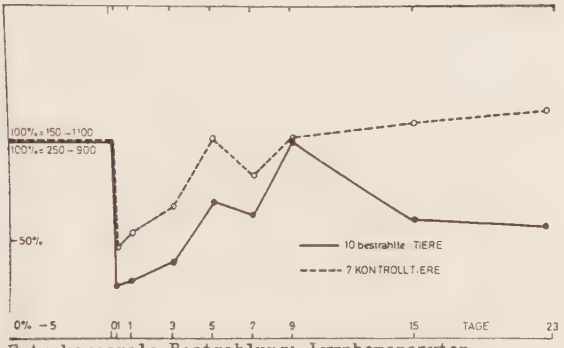

Abb. 29: Extrakorporale Bestrahlung: Lymphomonozyten

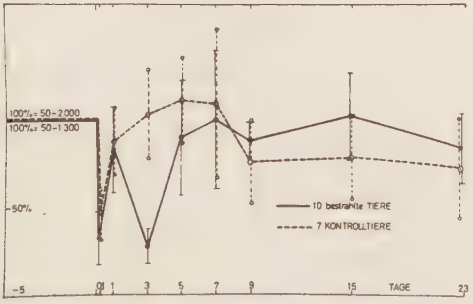

Abb. 30: Extrakorporale Bestrahlung: Monozyten

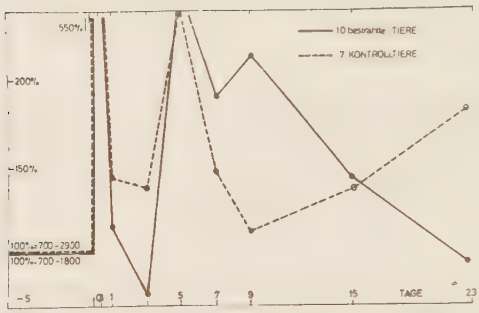

Abb. 31: Extrakorporale Bestrahlung: Granulozyten

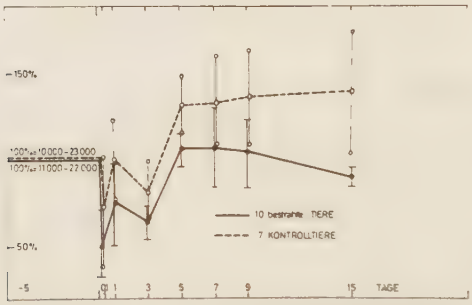

Abb. 32: Extrakorporale Bestrahlung: Makronukleoläre kleine Lymphozyten

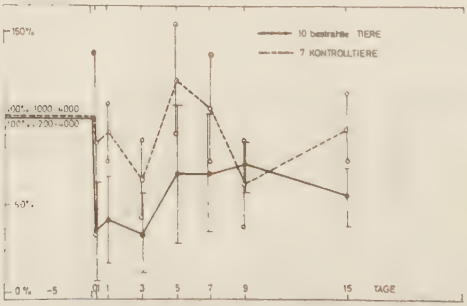

Abb. 33: Extrakorporale Bestrahlung: Mikronukleoläre kleine Lymphozyten

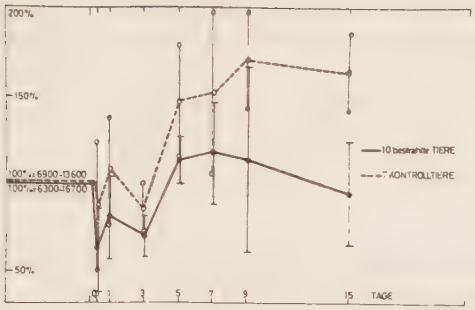

Abb. 34: Extrakorporale Bestrahlung: Hohe Aktivität der unspezifischen Esterase

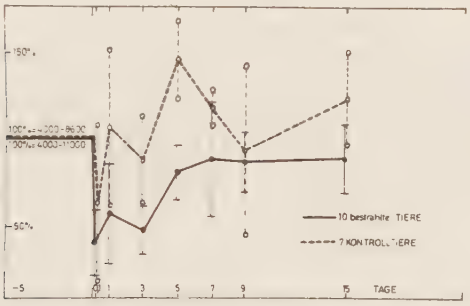

Abb. 35: Extrakorporale Bestrahlung: Niedrige Aktivität der unspezifischen Esterase

HOMOLOGE HAUTTRANSPLANTATE

Die homologen Hauttransplantate wurden in beiden Bestrahlungsmodellen um 7 bis 10 Tage verzögert abgestoßen. Die Ganzkörperbestrahlung hatte einen um zwei Tage länger anhaltenden Effekt als die extrakorporale Bestrahlung. Die autologen Kontrolltransplantate heilten in allen Fällen komplikationslos ein.

Die Transplantatabstoßungszeiten mit ihren arithmetischen Mittelwerten in Klammern werden in der folgenden Tabelle wiedergegeben. Unverzögerte Abstoßungszeiten der Kontrolltiere werden verglichen mit verzögerter Abstoßung nach Ganzkörperbestrahlung (GKB) und Extrakorporalbestrahlung (EKB). Zugrunde gelegt sind

	Beginn der immunolog. Reaktion	vollständige Nekrose	vollständige Abstoßung	Verlängerung gegenüber Kontrollen
GKB	12–16	16–21 (19,5)	22–35 (28)	9–10
Kontrollen	4–6	8–11 (9,3)	13–24 (18,9)	
EKB	10–17	14–21 (18,3)	19–32 (27)	7–8
Kontrollen	4–6	8–11 (10,0)	16–25 (20)	

die Werte des histologisch feststellbaren Beginns der Transplantatabstoßung, die durch Abzugvon 4 bis 5 Tagen vom jeweiligen Zeitpunkt der vollständigen Nekrose errechnet werden (Erklärung s. S. 14).

NIERENTRANSPLANTATE

Da das transplantierte Nierengewebe subkutan lag, konnte es nicht optisch kontrolliert werden, sondern nur palpatorisch. Dabei fiel auf (Abb.36), daß die zunächst gut abgrenzbaren Knoten immer größer wurden und schließlich zu einer haselnußgroßen Geschwulst zusammenwuchsen, deren Konsistenz teils derb,

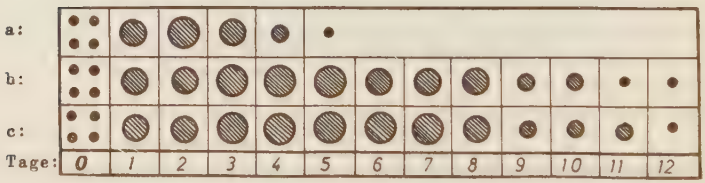

Abb. 36: Nierengewebstransplantate

a) Nichtbestrahlte weiße Ratten mit homologem (heterogenetischem) Transplantat;
b) Nichtbestrahlte schwarze Ratte mit isogenetischem Transplantat;
c) mit 550 R ganzkörperbestrahlte Ratten mit homologem Transplantat;
Die schraffierten Kreise mit unterschiedlichen Durchmessern geben schematisch die Volumenänderungen des subkutan liegenden Nierengewebes wieder.

teils weich wie eine mäßig gefüllte Zyste war. Im Endzustand waren nur derbe Bindegewebsstränge tastbar. Nichtbestrahlte Tiere brauchten zur Beseitigung des Nierengewebes 4 bis 6 Tage, mit 550 R bestrahlte dagegen 11 bis 13 Tage.

Bei einer nichtbestrahlten, dunkelfarbenen Ratte, der die Nieren eines isologen Geschwistertieres transplantiert worden waren, wurde der Organbrei wie bei den bestrahlten Tieren erst nach 11 Tagen resorbiert.

KORRELIERUNG VON IMMUNOSUPPRESSION UND STRAHLENBEDINGTER LEUKOZYTENVERMINDERUNG

Nach Ganzkörperbestrahlung (Abb. 37) sind in dem Zeitraum, in dem die immunologische Transplantatreaktion bei den Kontrolltieren mit normalen Leukozytenzahlen beginnt (5 bis 7 Tage nach Bestrahlung, 4 bis 6 Tage nach Transplantation), alle Zellgruppen unter 50 % des Ausgangswertes gesenkt. Die basophilen Lymphozyten und die Monozyten wie Lymphomonozyten steigen in den nächsten Tagen auf ihre Ausgangswerte oder ein neues Niveau an, ohne daß das Transplantat abgestoßen wird. Der Beginn der immunologischen Reaktion (13 bis 17 Tage nach Bestrahlung, 12 bis 16 Tage nach Transplantation) trifft zusammen mit einem Anstieg der hellen Lymphozyten.

Nach extrakorporaler Bestrahlung (Abb. 38) sind in dem Zeitraum, in dem die Transplantatrejektion bei den Kontrolltieren mit nur kurzzeitig veränderten Leukozytenzahlen beginnt (0 bis 2 Tage nach Bestrahlung, 4 bis 6 Tage nach Transplantatsetzung) hellplasmatische Lymphozyten und Lymphomonozyten stärker vermindert als die Monozyten. Basophile Lymphozyten sind nur geringfügig oder überhaupt nicht vermindert. Zur Zeit der verzögerten Transplantatrejektion (6 bis 13 Tage nach Bestrahlung, 10 bis 17 Tage nach Transplantation) haben alle Leukozyten bis auf die Lymphomonozyten 90 % des Ausgangswertes erreicht oder überschritten, wie z.B. die kleinen hellplasmatischen Lymphozyten.

Eine Korrelation zwischen immunologischer Reaktion und charakteristischem Absinken und Wiederansteigen eines Zelltyps ist im Versuchsmodell mit Nierengewebstransplantation wohl nicht möglich (s. S. 56).

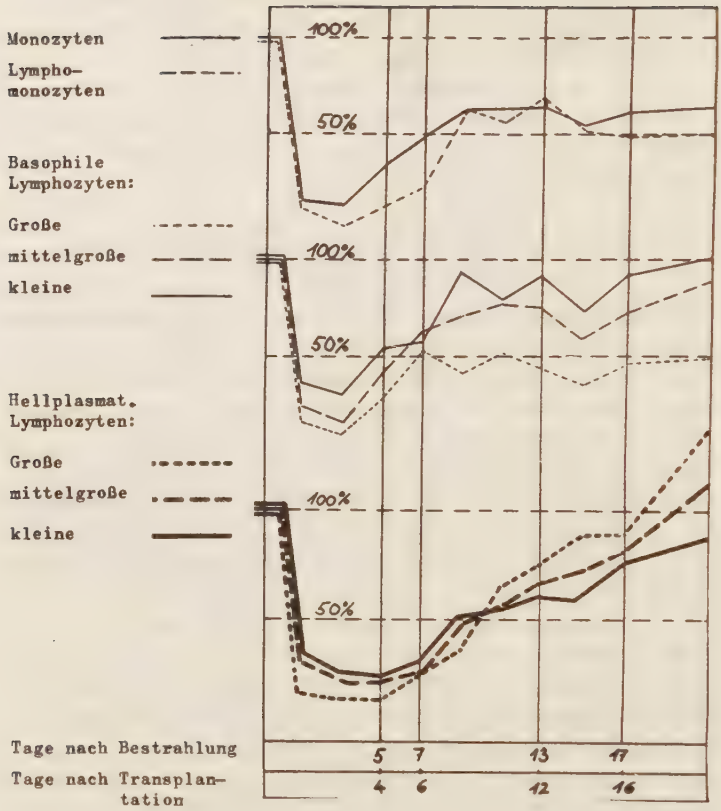

Abb. 37: Verhalten verschiedener mononukleärer Zelltypen nach 500 R - Ganzkörperbestrahlung korreliert mit Transplantatabstoßungszeiten. Zugrundegelegt sind Zeiten des histologisch feststellbaren Beginns der Transplantatabstoßung. Der durchbrochen schraffierte Bereich gibt die Abstoßungszeiten der Kontrolltiere mit normalen Lymphozytenzahlen an, der durchgehend schraffierte Bereich die Zeiten der verzögerten Abstoßung bei den bestrahlten Tieren.

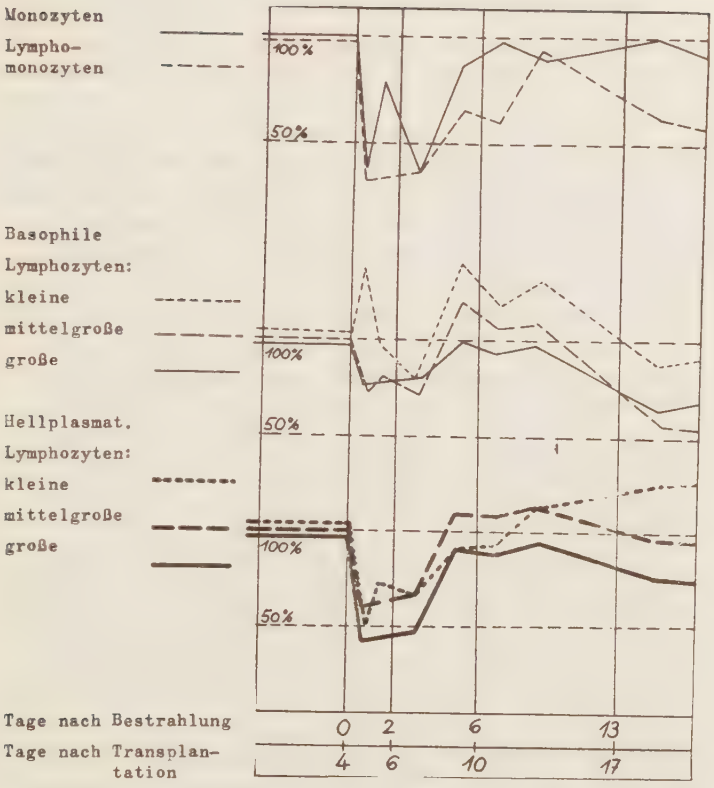

Abb. 38: Verhalten verschiedener mononukleärer Zelltypen nach extrakorporaler Bestrahlung korreliert mit Transplantatabstoßungszeiten. Erklärung bei Abb. 36 und im Text.

DISKUSSION

Wegen der relativ geringen Anzahl von Versuchstieren wurde auf eine statistische Verifizierung der Ergebnisse verzichtet. Die Streuung der Werte nach Ganzkörperbestrahlung ist hauptsächlich durch eine zeitlich verschieden früh einsetzende Regeneration bei den einzelnen Tieren begründet. Die recht unterschiedlichen Werte nach extrakorporaler Bestrahlung rühren von der Operation her, die nicht schematisch exakt durchgeführt werden kann, und bei der sehr viele Faktoren zusammenwirken. Eine größere Zahl von Experimenten würde klarere Ergebnisse bringen, sodaß sich die entsprechenden Werte der Kontrolltiere und der bestrahlten Tiere mit ihrer Streuungsbreite nicht mehr berührten. Daß es sich hier nicht um ein "zufälliges Ergebnis" handelt, ist bei Pichlmaier (69) bewiesen.

Die Zusammenstellung von drei verschiedenen Bestrahlungsversuchen und zwei unterschiedlichen Transplantationen verlangt einerseits eine Korrelation, andererseits jedoch eine Trennung der Ergebnisse. Deshalb sollen zunächst die morphologischen und später die immunologischen Befunde besprochen werden.

MORPHOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN DURCH DIREKTE STRAHLENEINWIRKUNG

Kernpyknosen werden schon bei Strahleneinwirkungen unter 10 R beobachtet (32). 5 R in vitro bewirken morphologische Veränderungen und Immobilität der Zellen (93). Zwei Stunden nach Bestrahlung tritt eine ausgedehnte Kernlappung ein (84, 85), im gleichen Zeitraum Karyorrhexis und Pyknosen (1). Der Zelldurchmesser wird größer (75), entweder ödematös durch Autolyse (35), oder durch hygroskopische freie Phosphatansammlungen nach DNS-Depolymerisierung (84). Lymphozyten mit solchen Veränderungen stellen Abbauformen dar. Diese Veränderungen sind irreversibel: sie sind das Zeichen des bevorstehenden Todes.

BLUTBILDVERÄNDERUNGEN DURCH DIREKTE STRAHLENEINWIRKUNG

Alle mononukleären Zellen werden durch eine Ganzkörperbestrahlung

mit 500 R oder 550 R etwa im gleichen Ausmaß getötet. Je nach Zelltyp und Bestrahlungsintensität schwankt die Verminderung zwischen 70 % und 95 %. Große basophile Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten sind weniger stark betroffen als die anderen Zelltypen.

Beide subletalen Bestrahlungen wirken zunächst gleich. Während aber die Ganzkörperbestrahlung mit 550 R bereits am ersten Tag alle beobachteten Zellen auf ein Minimum reduziert, zeigt sich nach 500 R die größte Wirkung erst nach 3 Tagen. Der Effekt der stärkeren Bestrahlung hält je nach Zelltyp zwischen 4 und 10 Tage lang an. Der schwächeren Bestrahlung folgt eine Regeneration zwischen dem 4. und 7. Tag.

REGENERATIVE MORPHOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN NACH SUBLETALER GANZKÖRPERBESTRAHLUNG

Die Zellen werden überall im Rattenkörper von den ionisierenden Strahlen erreicht: also im Blut, im speichernden Gewebe und an den Regenerationsorten. Die Ganzkörperbestrahlung stellt somit ein ideales Modell dar, um die Regeneration des lymphatischen Systems zu studieren. Die Beobachtung des Blutbildes ist berechtigt. Denn dieses "spiegelt ohne viele störende Nebeneinflüsse die Schädigung des lymphatischen Gewebes wieder, die weitgehend proportional zur Allgemeinschädigung verläuft" (Hug, 47). Ionisierende Strahlen schädigen den Nukleinsäurestoffwechsel (1, 47, 84, 86, 92). Die besondere Strahlensensibilität des lymphatischen Systems beruht wahrscheinlich auf einem ungewöhnlich hohen Gehalt an Nukleinsäuren und auf einem Mangel an Protein (45). Auf diese Ursachen sind Kernabsprengungen zurückzuführen, die in der ersten Regenerationszeit erscheinen. Doppelkernige Lymphozyten entstehen durch unvollständige Mitosen. Sie werden auch beim Menschen nach Strahlenbelastung vermehrt gefunden (50).

REGENERATIVE BLUTBILDVERÄNDERUNGEN NACH SUBLETALER GANZKÖRPERBESTRAHLUNG

Obwohl die Regeneration, die der schwächeren und der etwas stärkeren subletalen Bestrahlung folgt, in einigen Details wenig gemeinsame Züge hat, ist die Tendenz in beiden Versuchen offensichtlich gleich. Die ersten Anzeichen einer Regeneration treten

nach beiden Ganzkörperbestrahlungen für die einzelnen Zelltypen in der gleichen Reihenfolge auf. Großkernige Zellen regenerieren zuerst; davon als erste am 4. Tag die großen basophilen Lymphozyten. Sie erreichen spätestens am 7. Tag wieder den Ausgangswert. Nach der stärkeren Bestrahlung wird vorübergehend schon am 5. Tag ein Schub beobachtet, der über das Ausgangsniveau hinausgeht. Diesen Zellen folgen dicht die Monozyten, die im Fall der stärkeren Bestrahlung in der Folgezeit vermehrt, im Falle der schwächeren Bestrahlung dagegen vermindert auftreten. Mittelgroße basophile Lymphozyten sind in ihrem Verhalten zwischen große basophile Lymphozyten und kleine basophile Lymphozyten einzuordnen. Kleine Lymphozyten verraten zeitlich am längsten den Strahlenschaden der lymphatischen Gewebe. Eine erste Regeneration zeigt sich am 5. bzw. 7. Tag. Normale Zahlenverhältnisse treten erst nach 3 bzw. 6 Wochen wieder auf. Die erste Regeneration am 5. bzw. 7. Tag wird von kleinen basophilen Lymphozyten ausgeführt. Die kleinen hellplasmatischen Lymphozyten erscheinen 3 bis 4 Tage später. Während sich diese Zellen konstant vermehren und später sogar den Ausgangswert übertreffen, erreichen die basophilen Formen während der ganzen Beobachtungsdauer nicht mehr die Norm. Granulozyten durchlaufen ein Minimum zwischen dem 3. und 7. Tag. Sie werden einen Tag nach der Bestrahlung entweder vermehrt oder normal ausgeschüttet. Am 11. bzw. 17. Tag wird eine Granulozytose beobachtet.

Zusammengefaßt ergibt sich: Basophile Lymphozyten jeder Größe tauchen vor den hellplasmatischen jeder Größe auf. Nach der zeitlichen Folge und dem Ausmaß der Regeneration ergibt sich für die basophilen Lymphozyten eine Rangordnung von groß über mittelgroß zu klein. Hellplasmatische Lymphozyten sind eher in kleine, mittelgroße und große zu ordnen. Aus diesen Befunden kann man folgende Schlüsse ziehen:

Das frühe Erscheinen großer basophiler mononukleärer Zellen ist ein Zeichen der lymphatischen Regeneration und der Knochenmarksregeneration, wie ein Vergleich mit histologischen Untersuchungen zeigt (1, 6, 22, 23, 61, 95). Diese Zellen stellen keinen einheitlichen Zelltyp dar. Ross e.a. (76) bezeichneten diese Zellen als "wahrscheinlich atypische Lymphoblasten". Forssberg (32) beobachtete nach Bestrahlung unreife Monozyten, eine Monozytose und "plasmazelluläre frühe mononukleäre Zellen".

Wir fanden alle morphologischen Übergänge vom typischen Kern der großen basophilen Lymphozyten über den typischen Kern der Lymphomonozyten zum typischen Monozytenkern bei gleicher Zytoplasmabasophilie. Wir ordneten diese Zellen nach den Kriterien des Kerns ein. Das ist berechtigt; denn nach Erich (27) ist das Zytoplasma der Vorläufer reifer Monozyten (Promonozyten) basophil. Für die basophilen Lymphozyten läßt sich außerdem eine zeitlich lückenlos fortschreitende Entwicklungsreihe von groß über mittel zu klein aufstellen. Durch Markierung mit 3H-Thymidin ergeben sich weitere Hinweise für diese These (88). Andere Untersucher (28, 78) fanden nach 3H-Thymidin-Injektion im Ductus thoracicus und im Blut zuerst große, dann mittelgroße und schließlich kleine markierte Lymphozyten, wobei allerdings morphologische Unterschiede nicht berücksichtigt wurden. Während unsere Befunde bei den basophilen Lymphozyten eine Rangordnung von groß über mittel nach klein ergaben, ist diese Reihe bei den hellplasmatischen Lymphozyten nicht so deutlich nachweisbar. Das muß nicht bedeuten, daß diese Zellen alle die gleiche Lebensdauer und Funktion haben. Große und mittlere Lymphozyten haben einen rascheren Turnover als kleine (28, 78, 88). Außerdem phagozytieren hellplasmatische große Lymphozyten wesentlich häufiger Tusche als kleine (89). Lymphomonozyten verhalten sich nach den beiden unterschiedlich intensiven Bestrahlungen verschiedenartig. Sie zeigen eine gewisse Parallelität zu den großen hellen Lymphozyten. Monozyten erinnern in ihrem Verhalten an Granulozyten und an basophile Lymphozyten. Die frühe Monozytose und Granulozytose können als Zeichen der Knochenmarksregeneration gelten; denn Monozyten weisen eine enge Korrelation zu granulozytären Reaktionen auf (62) und nach neueren Befunden stammen sie aus dem Knochenmark (58, 90).

Basophile Lymphozyten werden entweder schneller gebildet (88) oder früher ausgeschwemmt als hellplasmatische. Möglicherweise sind die kleinen basophilen Lymphozyten Jugendformen der hellen. Es ist aber auch denkbar, daß diese beiden Lymphozytenformen eigenständige Zellpopulationen darstellen.

Während die morphologischen Veränderungen von Blutzellen in der Destruktionsphase unmittelbar nach Bestrahlung häufig beschrieben wurden, liegen unseres Wissens keine Beobachtungen über die Lymphozytenmorphologie in der Regenerationsphase vor.

Alle hellplasmatischen Lymphozyten, die sich während dieser Phase im Blut aufhalten, weisen einheitlich einen kreisrunden, homogenen Kern und einen breiten, wasserklaren Zytoplasmasaum mit wenigen feinen Azurgranula auf. Diese Zellen machen nur 5 % bis 20 % der hellplasmatischen Lymphozyten im normalen Rattenblut aus. Wahrscheinlich sind sie jünger als die meisten anderen Lymphozyten, deren Kernchromatin oft verdichtet ist, deren Kerne nicht immer kreisrund sind und deren Zytoplasma grau verfärbt ist. Eine Ratte, die 3 Wochen nach 500 R-Bestrahlung 100 % Lymphozyten mit extrem hellem Zytoplasma hatte und 5 Wochen später untersucht wurde, besaß davon nur mehr 10 %.

UNTERSCHIEDLICHE WIRKUNGEN DER GANZKÖRPERBESTRAHLUNG MIT 500 R UND 550 R

Die Dosiswirkungskurve von ionisierenden Strahlen bei Ratten verläuft steil (55). Eine geringe Steigerung einer hohen subletalen Strahlendosis hat eine erhebliche Zunahme der Mortalität zu Folge. Unterhalb der 500 R-Grenze ist die Mortalität fast gleich Null, ab 600 R bis 800 R sterben alle Ratten (73). eine Steigerung der 500 R-Dosis um 10 % erhöht die Mortalität auf etwa das Dreifache (55). Da der Tod durch Kapillarwandbrüche, Epithelschäden und Zerstörung des blutbildenden Gewebes hervorgerufen wird und dosisproportional ist, kann man auf eine Dosisänderung auch eine verschieden intensive Veränderung dieser Gewebe erwarten.

BLUTBILDVERÄNDERUNGEN DURCH DIE EXTRAKORPORALE BESTRAHLUNG

Die Ganzkörperbestrahlung stellte einen tiefgehenden Eingriff in den Rattenorganismus dar. Mit ihr waren alle Zellen zu treffen, die Blutzellen z.B. im Blut, in den Depotgeweben und in den Produktionsgeweben. Durch die extrakorporale Bestrahlung werden dagegen isoliert Zellen, die sich im Blut aufhalten, getötet und damit aus dem Blut entfernt. Von jeder kernhaltigen Blutzelle, die während der extrem starken Bestrahlung (1000 R verteilt über 20 Minuten) das Shuntsystem durchläuft, muß man annehmen, daß sie zerstört wird. Dafür sprechen auch die Ergebnisse der Ganzkörperbestrahlung, die besagen, daß keiner der beobachteten Zelltypen verschont wird.

Die Wirkung der extrakorporalen Bestrahlung hält solange an, bis entweder vermehrt neue Zellen produziert oder reife Zellen aus speichernden Geweben (pools) freigesetzt worden sind. Unsere Befunde ergeben im wesentlichen zwei Tatsachen: Die Lymphopenie ist hauptsächlich auf eine starke Verminderung hellplasmatischer Lymphozyten zurückzuführen. Kleine basophile Lymphozyten scheinen eher vermehrt zu sein. Also müssen die kleinen basophilen von der Bestrahlung bis zur ersten Blutabnahme in 3 Stunden nachgeliefert worden sein. Eine so rasche Nachproduktion von kleinen Lymphozyten ist unmöglich. Die Erneuerungsrate von kleinen Lymphozyten liegt bei 1 % bis 5 % täglich (28, 29, 78, 88, 97). Eine Erklärung liefert die von Gowans (40) bewiesene Rezirkulation der kleinen Lymphozyten (s. auch 29). Diese rezirkulieren vom Blut über die postkapillären Venolen in die Lymphe, mit dieser in die Lymphknoten und von dort über die Vasa efferentia in den Ductus thoracicus, der in die venöse Strombahn einmündet (74). Die Zirkulationszeit eines Lymphozyten beträgt 20 bis 40 Minuten (19, 91). Die Ductus-thoracicus-Lymphozyten sind nach unseren Beobachtungen zu 90 % klein und basophil. Ein großer Teil der kleinen basophilen Lymphozyten hält sich außerhalb der Blutbahn auf. Er kann durch die Bestrahlung nicht erreicht werden. Ein Verlust dieser Zellen in der Peripherie wird schnell ersetzt, weil der Pool unangetastet bleibt. Vom lymphatischen System nimmt man an, daß nur etwa 1 % aller vorhandenen Lymphozyten im Blut kreist (46). Die hellplasmatischen Lymphozyten rezirkulieren entweder langsamer oder ihr Pool liegt im Blut. In beiden Fällen dauert es lang, bis nach einer Zerstörung ihre Konzentration im Blut wieder normal ist.

Andere Untersucher (17, 18, 19) erreichten durch extrakorporale Blutbestrahlung bei Kälbern eine deutliche Lymphopenie: z.B. nach einer 4 Stunden dauernden Bestrahlung eine Lymphopenie von 50 %. Wurde die Bestrahlungsdauer verlängert, so resultierte eine länger andauernde Lymphopenie, die nach 6stündiger Bestrahlung 28 Tage lang bestand. Eine kürzer dauernde Bestrahlung hatte vielleicht deswegen eine weniger ausgeprägte Wirkung als bei unseren Ratten, weil Cronkite e.a. (18, 19) einen veno-venösen Shunt mit einem relativ zum Blutvolumen des Kalbes geringen Durchflußvolumen bestrahlten. In unseren Versuchen faßte dagegen der arterio-venöse Shunt allein ein Viertel des gesamten Blutvolumens

der Ratte. Das Kalb hat zudem eine viel geringere periphere Lymphozytose als die Ratte. Es werden also pro Volumeneinheit bestrahlten Blutes beim Kalb viel weniger Lymphozyten zerstört als bei der Ratte. Das Kalb als Großtier hat wahrscheinlich eine langsamere Lymphozytenrezirkulation als die Ratte, für die ein hoher Grundumsatz und eine schnelle Blutzirkulation charakteristisch sind. So wird es verständlich, daß unsere knapp halbstündige Bestrahlung bei der Ratte etwa den gleich starken Effekt zeigte wie eine 4stündige beim Kalb.

Cronkite e.a. (18) forderten einen "negativen feedback-Mechanismus", eine Produktionshemmung des lymphatischen Gewebes durch strahlenbedingte Lymphozytenzerfallsprodukte, da eine Ableitung von Ductus-thoracicus-Lymphozyten, die einige Stunden dauert, keine anhaltende Lymphopenie zur Folge hat. Die Differenzierung der Lymphozyten mit Hilfe der panoptischen Färbung zeigt jedoch, daß die anhaltende Wirkung der extrakorporalen Bestrahlung allein durch den Verlust der hellplasmatischen Lymphozyten bedingt ist, die im Ductus thoracicus kaum vorkommen. Die Ganzkörperbestrahlung beweist darüber hinaus, daß diese Zellen langsam nachgeliefert werden.

Nach einer 38 bis 48 Stunden dauernden Shunt-Bestrahlung bei Kälbern entstehen folgende histologische Veränderungen: In der Milz eine starke Verminderung der Lymphozyten im Gebiet um die Keimzentren; im Thymus eine merkliche Abnahme der Rindendicke, wobei die Zellzahl im Mark nicht sicher vermindert ist; im Inguinallymphknoten eine starke Verminderung der Rinden- und Marklymphozyten.

BLUTBILDVERÄNDERUNGEN DURCH DIE SHUNTOPERATION

Durch einen unspezifischen Effekt, hervorgerufen durch die Anastomosis carotidojugularis, kommt es vorübergehend zu einer Lymphopenie und einer Granulozytose. Die kleinen hellplasmatischen Lymphozyten erreichen ihren Ausgangswert spätestens nach einem Tag wieder. Dagegen sind große und mittelgroße basophile Lymphozyten und Lymphomonozyten 3 Tage lang vermindert. Wahrscheinlich werden reife kleine Lymphozyten aus einem Pool mobilisiert, während junge Formen nur langsam nachgebildet werden. Für die Blutbildveränderung kommen mehrere Ursachen in Betracht. So ist an eine mechanische Zerstörung durch den Kunststoffschlauch zu denken.

Einflüsse durch Chloralhydrat, Toxine oder die akute zerebrale Mangeldurchblutung sind ungewiß. Dagegen kann man der Auskühlung (die Ratten waren 45 bis 60 Minuten voll-narkotisiert) und der Operation einen Stresseffekt zuschreiben (25, 26). Der Stress führt bekanntlich zur Freisetzung von Glucocorticoiden aus der Nebennierenrinde. Die lymphozytenzerstörende Wirkung von Cortison ist experimentell bestätigt (7, 25, 26, 33, 34, 35, 42, 48).

MORPHOLOGISCH UND FUNKTIONELL UNTERSCHEIDBARE LYMPHOZYTENGRUPPEN

Lymphozyten sind morphologisch kein einheitlicher Zelltyp. Die Masse der kleinen Lymphozyten kann durch bestimmte Färbemethoden, z.B. durch die May-Grünwald-Giemsa-Färbung und die Methylenblau-Färbung aufgegliedert werden oder nach unterschiedlichen Fähigkeiten eingeteilt werden, z.B. nach der histochemisch feststellbaren Konzentration der unspezifischen Esterase, oder an Hand verschiedenartiger Funktionen differenziert werden, z.B. der Phagozytose von Tuschepartikeln. Eine morphologische Einteilung findet dann ihre Berechtigung, wenn gleichzeitig ein entsprechender funktioneller Unterschied zwischen den Zelltypen besteht. In unseren Versuchen wird die zunächst willkürlich erscheinende Einteilung in basophile und hellplasmatische Lymphozyten durch eine unterschiedliche Verhaltensweise dieser Zellen bestätigt. Basophile Lymphozyten werden schneller gebildet und rezirkulieren häufiger als hellplasmatische Lymphozyten. Basophile Lymphozyten werden durch eine Ganzkörperbestrahlung anhaltender reduziert als hellplasmatische. Durch andere Untersucher wurden diese Funktionsunterschiede teils bestätigt, teils durch weitere ergänzt. So konnte mittels 3H-Thymidin-Markierung die Lebenszeit kleiner basophiler Lymphozyten auf einige Wochen, kleiner hellplasmatischer auf einige Monate berechnet werden (88). Nach einer einmaligen Injektion von 3H-Thymidin sind im Ductus thoracicus, in dem fast nur basophile Lymphozyten gefunden werden, 6 Stunden später 2% kleine Lymphozyten markiert (28). Die RNS-Synthese in basophilen Lymphozyten ist höher als in hellen Lymphozyten (88). Basophile Lymphozyten phagozytieren nie, hellplasmatische dagegen deutlich Tusche (89).

Ein Vergleich der May-Grünwald-Giemsa-Färbung mit der Esterasefärbung und Methylenblaufärbung erlaubt noch weitere Aussagen. Kleine hellplasmatische Lymphozyten sind nach den Ergebnissen

der Esterasefärbung zu einem großen Teil Esterase-schwach-positiv oder -negativ im Gegensatz zu den kleinen basophilen Lymphozyten. Kleine helle Lymphozyten sind darüber hinaus RNS-arm. Sie besitzen nur einen Nukleolus. Diese Eigenschaften sind mit der Methylenblaufärbung feststellbar. Die Zahl der Nukleolen, die Zytoplasmabasophilie und damit der RNS-Gehalt sind direkt voneinander abhängig (44, 54, 60, 87).

Grundmann (43) fand in histologischen Schnitten lymphatischer Gewebe kleine Lymphozyten, die er nach dem Gehalt der Nukleolen, Zytoplasmabasophilie und Lokalisation in zwei Gruppen einteilte: Follikellymphozyten, weil sie in den Follikeln von Lymphknoten und Milz (und im Thymus) vorkommen (ihr Zytoplasma ist hell, sie besitzen nur einen Nukleolus); Sinuslymphozyten, weil sie sich hauptsächlich in der Nachbarschaft der Marksinus von Lymphknoten und Milz (und in der Thymusrinde) befinden (sie weisen ein tiefbasophiles Zytoplasma und mehrere Nukleolen auf). Diese Sinuslymphozyten schwimmen auch abgerundet in der Marksinuslymphe.

Im peripheren Blut werden mit einer spezifischen Nukleolenfärbung zwei verschiedene kleine Lymphozytentypen erkennbar (9, 44, 87). Der eine hat einen deutlichen Nukleolus, eine scharf gezeichnete Kerngrenze, der andere Reste von spitz auslaufenden Nukleolen und eine verwaschene Kerngrenze. Der Gedanke, diese beiden Typen im peripheren Blut könnten mit denen des lymphatischen Gewebes korrespondieren, lag nahe. Daher wurden die einen Follikellymphozyten (oder Makronukleoläre), die anderen Sinuslymphozyten (oder Mikronukleoläre) genannt (44). Sie sollen im Blut von Ratten und Menschen vorkommen.

Wir fanden aber im Rattenblut unter den kleinen Lymphozyten nicht 2, sondern 3 verschiedene Formen (Abb. 2), die sehr konstant auftraten: solche mit hellem Zytoplasma, einem einzigen runden Nukleolus und scharf gezeichneter Kernplasmagrenze (Mononukleoläre); solche mit tiefbasophilem Zytoplasma, 2 bis 3 runden Nukleolen und scharfer Kerngrenze (Polynukleoläre); solche mit hellem oder schmalem basophilem Zytoplasmasaum, zackig ausgezogenen oder staubförmigen, netzig verbundenen Nuklcolenresten und unscharf begrenztem Kern (Mikronukleoläre). Das Verhältnis der 3 Typen zueinander war annähernd konstant. 50 % Mononukleoläre, 35 % Polynukleoläre und 15 % Mikronukleoläre (s. Abb. 38). Die Mononukleolären entsprechen Grundmanns Follikellymphozyten des Blutes,

die Mikronukleolären den Sinuslymphozyten des Blutes (wie aus den von Grundmann veröffentlichten Fotografien hervorgeht), die Polynukleolären den kleinen basophilen Lymphozyten. Mononukleoläre und Polynukleolöre ergeben zusammen die Makronukleolären (Follikellymphozyten Grundmanns; s. Abb. 38).

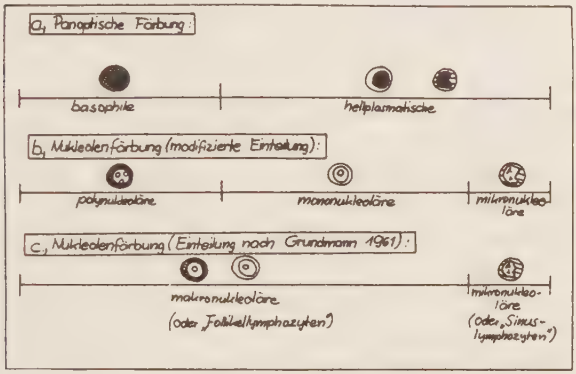

Abb. 38: Übersicht über die mit der May-Grünwald-Giemsa-Färbung und der Nukleolenfärbung mit Methylenblau darstellbaren kleinen Lymphozytentypen des peripheren Rattenblutes

Mikronukleoläre wurden vermehrt in dickschichtigen Ausstrichen gefunden, in denen die Leukozyten eingekeilt zwischen Erythrozyten lagen. Nur in optimal angefertigten Präparaten, in denen die Zellen flach ausgebreitet waren und sich kaum berührten, konnten einigermaßen einheitliche Ergebnisse ausgezählt werden. Die Mikronukleolären als eigenen Zelltyp zu bezeichnen, ist sehr problematisch. Schon die voneinander abweichenden Ergebnisse, die man aus verschiedenen Bereichen von einem und demselben Präparat erhält, auch wenn es gut ist, deuten an, daß es sich zumindest zu einem Teil um ein Artefakt handelt. Man sollte auch daran denken, daß mancher kleine Lymphomonozyt mitgezählt wird. Denn Lymphomonozyten haben wie Monozyten meist nur sehr kleine Nukleolen.

Nach extrakorporaler Bestrahlung sind die mikronukleolären kleinen Lymphozyten längere Zeit verschwunden. Möglicherweise handelt es sich bei diesen Zellen um Abbauformen kleiner Lymphozyten im peripheren Blut (87), die nach einiger Zeit vom RHS

phagozytiert werden. Da der Verlust in der Peripherie mit jüngeren Zellen ausgeglichen wird, dauert es längere Zeit, bis wieder Abbauformen erscheinen. Nach Ganzkörperbestrahlung werden sofort mikronukleoläre kleine Lymphozyten beobachtet. Das läßt die Vermutung zu, daß der RNS-Stoffwechsel dieser Zellen gestört ist.

Es wäre vielleicht besser, Grundmanns Begriff des Sinuslymphozyten (Pulpalymphozyten) im Blut für den kleinen basophilen Lymphozyten zu verwenden, da diese Zelle die Kriterien des Pulpalymphozyten im lymphatischen Gewebe erfüllt. Diese Zelle wird darüber hinaus im Ductus thoracicus gefunden (eigene Beobachtungen an drainierter Ductus-thoracicus-Lymphe von Sprague-Dawley-Ratten), der aus dem Lymphknotenmarksinus entspringt, in dessen direkter Nachbarschaft das Stammgewebe der Pulpalymphozyten liegt.

Die histologischen Befunde Cronkites nach langdauernder extrakorporaler Bestrahlung sprechen von einer starken Erschöpfung des Stammgewebes der Pulpalymphozyten (s. S. 43). Diese Zellen rezirkulieren häufig, wie oben ausgeführt wurde. Jede Zelle, die ins Shuntblut gelangt, wird zerstört. Auf diese Weise kann der Pool nach und nach erschöpft werden (40). Im Gegensatz dazu wird der Pool der hellplasmatischen Lymphozyten, der sehr wahrscheinlich im Blut und zum Teil im übrigen Körpergewebe liegt, direkt durch die Blutbestrahlung entleert. Daher hält in diesem Fall die Blutbildveränderung längere Zeit an, und zwar so lange, wie eine Ausschwemmung reifer Zellen aus einem zweiten Pool, der nicht im Blut liegt, oder eine Neubildung reifer Zellen in den Stammgeweben und eine anschließende Ausschwemmung dauert. Da die hellplasmatischen Lymphozyten morphologisch den Follikellymphozyten entsprechen, sind ihre Stammgewebe möglicherweise in den Follikeln von Lymphknoten und Milz und im Thymus zu suchen. Die Germinalzentren von Milz und Lymphknoten und der Thymus zeigen aber nach 3H-Thymidin-Injektion eine äußerst starke Markierung (28, 31), also eine rege Zellneubildung. Danach wäre das verspätete Erscheinen der hellplasmatischen Lymphozyten nicht auf eine langsame Neubildung dieser langlebigen Zellen, sondern auf eine langsame Ausschwemmung zurückzuführen, die aus den Germinalzentren durch direkte Diapedese ins Blut geschehen könnte, aus dem Thymus auf dem Blutweg oder durch die Halslymphgänge, die einen so niedrigen Lymphausstoß haben (56), daß ein Verlust von hellplasmatischen Lymphozyten im Blut in etwa 4 Tagen ausgeglichen werden könnte.

SICHTBARE TRANSPLANTATABSTOSSUNG UND IMMUNOLOGISCHE REAKTION

Die meisten homologen Hauttransplantate werden innerhalb von 8 Tagen abgestoßen (21, 72). Wir sahen bei 5 Kontrolltieren eine Abstoßung am 9. und 10. Tag. Nach André e.a. (2, 3, 4) liegt die maximale Reaktion am 9. postoperativen Tag. Erste, histologisch feststellbare Zeichen der Abstoßung sind Ödeme und Lymphozyteninfiltrationen. Sie erscheinen bei den verschiedensten Species zwischen dem 4. und 6. Tag (2, 12a). Der kleine Lymphozyt ist kompetent für zellgebundene Immunreaktionen (2, 3, 4, 10, 21, 39, 41, 72, 80, 81). Das Transplantat ist dicht infiltriert von kleinen Lymphozyten. Diese Zellen stammen zunächst aus dem regionalen Lymphknoten. Sie werden möglicherweise in den Germinalzentren gebildet, die am 4. Tag nach Transplantatsetzung bereits vergrößert sind und bis zum 6. Tag mächtig proliferieren (2). In der Milz treten sehr ähnliche Veränderungen auf: die Follikel vergrößern sich (41). Die erste Transplantatreaktion in der Milz beginnt nicht in der Pulpa, sondern in den Follikeln (2). Die Konzentration immunkompetenter Zellen im Blut, im regionalen Lymphknoten und in der Ductus-thoracicus-Lymphe steigt bis zum 6. Tag (12). Nach Sanguinetti e.a. (77a) hat eine Extrakorporalbestrahlung 48 Stunden nach Transplantation nur einen geringen immunosuppressiven Effekt. Die stärkste Wirkung zeigt sich am 4. Tag nach Transplantation. Zu dieser Zeit müssen also bereits spezifisch sensibilisierte Zellen im Blut vorhanden sein (69).

BLUTBILDVERÄNDERUNGEN UND IMMUNOLOGISCH AKTIVE LYMPHOZYTEN

Die extrakorporale und die Ganzkörperbestrahlung bewirken eine Verzögerung der Transplantatrejektion. Das beruht in beiden Fällen auf der Verminderung von immunkompetenten Zellen. Mononukleäre Zellgruppen (Abb. 36 und 37), die einerseits zu dem Termin vermindert waren, an dem die normale Transplantatabstoßung stattgefunden hätte, und andererseits zu dem Zeitpunkt der verzögerten immunologischen Reaktion vermehrt oder zumindest in normaler Anzahl vorliegen, sind möglicherweise immunkompetent. Danach kommen kleine, mittelgroße und große hellplasmatische Lymphozyten als immunologisch aktive Zellen in Betracht. Dieses Ergebnis ist zunächst erstaunlich. Denn immunologisch aktive Zellen wurden bisher häufig als basophil (= pyroninophil) beschrieben, so z.B. 1. Plasmazellen, 2. große pyroninophile

Zellen (41) und 3. kleine basophile Zellen in Transplantat-infiltraten (72).

Zu 1: Plasmazellen bilden vorwiegend Immunglobuline. Ihre Basophilie wird durch den extrem hohen RNS-Gehalt im Zytoplasma hervorgerufen. Die Bildung von Immunglobulinen in immunologisch aktiven Lymphozyten ist umstritten (39). Diese Zellen sollen vielmehr zytophile Antikörper, die von anderen Zellen stammen, auf ihrer Oberfläche tragen.

Zu 2: Große pyroninophile Zellen leiten die Transplantatrejektion im regionalen Lymphknoten, in der Milz und im Transplantat selbst ein (2, 4, 41). Sie entwickeln sich aus kleinen Lymphozyten und bilden kleine immunologisch aktive Lymphozyten (41). Sie selbst sind wahrscheinlich nicht immunkompetent.

Zu 3: Hauttransplantate sind durchsetzt von kleinen Lymphozyten, die direkt perivaskulär pyroninpositiv, etwas weiter entfernt aber pyroninnegativ sind (72). Zudem kann nur ein sehr kleiner Teil der mononukleären Infiltratzellen immunkompetent sein (12a, 72). Es steht also nicht fest, daß die zahlenmäßig überwiegenden basophilen Zellen auch immunologisch aktiv sind.

Vieles spricht dafür, daß hellplasmatische Lymphozyten immunkompetent sind. Die Follikel von Lymphknoten und Milz stellen die Produktionsorte immunkompetenter Lymphozyten dar. In ihnen beginnt die immunologische Reaktion gegen Hauttransplantate (2, 41). In den Keimzentren werden wahrscheinlich Follikellymphozyten gebildet (43). Diese Lymphozyten sind hellplasmatisch. Ihr Kern weist nur einen Nukleolus auf. Hellplasmatische Lymphozyten machen etwa 40 % bis 80 % der mononukleären Blutzellen aus. Nach Hurvitz e.a. (49) reagieren in vitro 65 % der Lymphozyten aus Menschenblut auf einen zellulären Antigenreiz und 76 % bis 82 % nach Reizung mit Phytohämagglutinin (67). Hellplasmatische Lymphozyten des Blutes weisen fast immer Azurgranula auf im Gegensatz zu basophilen. Nach Antigeninjektionen nehmen bei Menschen und Meerschweinchen azurgranulierte Lymphozyten um 30 % auf 60 % zu. Diese Azurgranulation wird in der Peripherie erworben. "Ihr kommt eine ganz bestimmte biologische Funktion im Rahmen der Antikörperbildung zu" (8). Der Gehalt an Azurgranula in Lymphozyten nimmt zu nach Inkubation im Serum von Patienten, die an Hepatitis epidemica erkrankt sind (16). Wird Ratten Pertussis-Vakzine injiziert, so vergrößert sich

der Durchschnittskernindex der Lymphozyten und ihr Zytoplasma wird hell (75).

Wenn in weiteren, spezifischen Versuchen bewiesen werden kann, daß hellplasmatische Lymphozyten immunologisch aktiv sind, dann sind 40 % bis 80 % der mononukleären Rattenblutzellen immunkompetent, d.h. sie können zu zellulären Immunreaktionen herangezogen werden. Dabei schöpft der Organismus aus diesem Vorrat nicht wahllos, wie z.B. bei granulozytären Reaktionen. Die Masse der immunkompetenten Lymphozyten ist zum Teil eher einer Population von individuellen Gruppen vergleichbar, von denen jede spezifisch gegen ein anderes Antigen oder einen Antigenkomplex gerichtet ist (13), also spezifisch immunisiert ist. Daher ist die Sensibilisierung gegenüber Transplantaten auch übertragbar. Der großen Gruppe potentiell immunologisch aktiver Zellen steht der geringe Prozentsatz der spezifisch gegen ein Hauttransplantat gerichteten Lymphozyten gegenüber: 0,2 % der mononukleären Blutzellen (72) oder 5 % der kleinen Blutlymphozyten (41).

NIERENTRANSPLANTATE

Die subkutan liegenden Nierenzellsuspensionen wurden in keinem Fall mikroskopisch untersucht. Daher ist unbekannt, welche Reaktion der Nierenbrei hervorgerufen hat. Die Resorption des Organbreies konnte um 7 Tage durch 550 R Ganzkörperbestrahlung verzögert werden. Nichtbestrahlte Ratten brauchten etwa 5 Tage zur Beseitigung dieses genetisch fremden Gewebes. Eine nichtbestrahlte, schwarze, genetisch durch Inzucht sehr nah verwandte Ratte brauchte dagegen 11 Tage, ähnlich wie bestrahlte, weiße, genetisch fremde Tiere.

Durch die Bestrahlung wurde nur scheinbar der gleiche Effekt erreicht wie durch Inzucht: eine partielle Toleranz gegenüber dem Transplantat. Im einen Fall wurde das Transplantat als ungenügend vaskularisiertes, autologes Gewebe, das bald wegen der schlechten Ernährung abstarb, durch Makrophagen beseitigt. Im Falle der bestrahlten Tiere stellte zwar der Wirtsorganismus fest, daß das Transplantat genetisch fremd war, aber da die Immunreaktion durch die intensive Bestrahlung wesentlich verzögert war, gingen die übertragenen Nierenzellen sehr wahrscheinlich zugrunde, bevor sie von immunologisch aktiven Zellen erreicht werden konnten.

Das Nierengewebstransplantat war nicht geeignet, die immunologische Abwehr zu testen. Dagegen zeigt der Versuch recht deutlich eine Störung der Makrophagen-Tätigkeit. Die Resorption des Fremdgewebes wurde durch die 550 R-Ganzkörperbestrahlung um 7 Tage verzögert. 7 Tage brauchten auch die Monozyten, um ihren Ausgangswert wieder zu erreichen, wie aus Abb. 17 zu ersehen ist.

ZUSAMMENFASSUNG

39 Sprague-Dawley-Ratten erhielten teils eine subletale Bestrahlung von 500 R oder 550 R, teils wurde ihr Blut extrakorporal mit 1000 R bestrahlt.

Veränderungen des Blutbildes wurden 20 bis 40 Tage lang beobachtet. Dabei wurden folgende Zelltypen differenziert: neutrophile und eosinophile Granulozyten, Monozyten, Lymphomonozyten, Lymphozyten. Die Lymphozyten wurden weiter unterschieden in drei Größentypen nach dem Kerndurchmesser; in basophile und helle nach der panoptischen Anfärbbarkeit des Zytoplasmas; in polynukleoläre, mononukleoläre und mikronukleoläre nach dem Gehalt an Nukleolen; in Esterase-hochaktive und -schwachaktive nach dem Gehalt an einer unspezifischen Esterase.

Die Wirkungen der beiden subletalen Ganzkörperbestrahlungen wiesen parallele Züge auf, waren jedoch in Einzelheiten verschieden. Die stärkste Zellverminderung trat innerhalb von einem bis drei Tagen ein. Dabei waren alle Zelltypen gleich stark betroffen. In der folgenden Regenerationszeit zeigte sich ein verschiedenartiges Verhalten der einzelnen Zelltypen. Nach dem zeitlichen Wiedererscheinen konnte für die Lymphozyten folgende Reihe aufgestellt werden: große, mittelgroße, kleine basophile Lymphozyten, dann hellplasmatische Lymphozyten ohne eine feste Beziehung zur Zellgröße. Lymphomonozyten verhielten sich etwa wie hellplasmatische Lymphozyten. Monozyten und Granulozyten stiegen ähnlich rasch wie die basophilen Lymphozyten an und zeigten eine enge Beziehung zueinander.

Die 4 Tage lang anhaltende Lymphopenie nach extrakorporaler Bestrahlung konnte auf das Fehlen von hellplasmatischen Lymphozyten zurückgeführt werden. Die Konzentration basophiler Lympho-

zyten konnte durch diese Bestrahlung nur gering und kurzzeitig beeinflußt werden.

Basophile Lymphozyten wurden als polynukleolär und Esterase-hochaktiv befunden. Für hellplasmatische Lymphozyten wurde eine Alterungsreihe von extrem hellen Zellen mit Azurgranula und einem runden Nukleolus, über schwach grau-basophile Zellen mit einem runden Nukleolus zu grau-basophilen Zellen mit Nukleolenresten wahrscheinlich gemacht.

Eine Korrelation der Abstoßung von Hauttransplantaten mit dem Verhalten der beobachteten Zelltypen brachte ein einheitliches Ergebnis: Hellplasmatische Lymphozyten sind wahrscheinlich zu Immunreaktionen befähigt.

Die Summe der Befunde spricht für die Existenz von zwei funktionell verschiedenen Lymphozytentypen. Die basophilen Lymphozyten der Ratte rezirkulieren schnell und verfügen über eine rasche Regenerierbarkeit im Gegensatz zu den hellplasmatischen Lymphozyten, die wahrscheinlich mit immunologischen Fähigkeiten ausgestattet sind.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Ackermann, G.A.
Bellios, N.C.
Knouff, R.A.
and Frajola, W.I.
Cytochemical changes in lymph nodes and spleen of rats after total body x-radiation
Blood 9, 795 - 803 (1954)

2. André, I.A.
Schwartz, R.S.
Mitus, W.
and Dameshek, W.
The morphologic responses of the lymphoid system to homografts. I. First and second set responses in normal rabbits.
Blood 19, 313 - 333 (1962)

3. André, I.A.
Schwartz, R.S.
Mitus, W.
and Dameshek, W.
The morphologic responses of the lymphoid system to homografts. II. The effects of antimetabolites.
Blood 19, 334 - 348 (1962)

4. André, I.A.,
Schwartz, R.S.
Mitus, W.
and Dameshek, W.
The morphologic responses of the lymphoid system to homografts. III. Electron microscopy study.
Blood 24, 113 - 133 (1964

5. Barnes, B.A.
Brownell, G.L.
and Flax, M.H.
Irradiation of the blood:method for reducing lymphocytes in the blood and spleen.- Science 145, 1188 - 1189 (1964)

6. Barrow, I.
and Tullis, L.
Sequence of cellular responses to injury of mice exposed to 1000 r total-body x-radiation.
Am. Arch. of Pathol. 53, 391 - 407 (1952)

7. Baserga, A.
et Morsiani, A.
La régénération lymphocytaire après prednisone
Schweiz.Med.Wschr. 91, 1190-1191 (1961)

8. Begemann, H.
Klinische und experimentelle Beobachtungen am immunisierten Lymphknoten.
S. 34 - 35, Freiburg (1953)

9. Begemann, H.
Rastetter, J.
und Fink, U.
Zur Klassifizierung der Lymphozyten.
Med. Klin. 58, 706 - 709 (1963

10. Billingham, R.E.
Brent, L.
and Medawar, P.B.
Quantitaive studies on tissue transplantation immunity.
Phil.Trans.B., 239, 357 - 361 (1956)

11. Billingham, R.E.
and Silvers, W.K.
The immunologic competence of chicken's skin.
J. of Immunology 82, 448 -457 (1959)

12. Billingham, R.E.
Silvers, W.K.
and Wilson, D.B.
Further studies an adoptive transfer of sensitivity of skin homografts.
J. of Exper. Med. 118, 397-420 (1963)

12a. Brent, L.
Tisaue transplantation immunity.
Progr. Allergy 5, 271 - 348 (1958)

13. Burnet, F.M.
Antikörper und Immunität.
Das med. Prisma 1, 1 – 23 (1965)

14. Burwell, R.G.
Studies at the primary and the secondary immune response of lymphnodes draining homografts of fresh cancellous bone (with particular reference to mechanisms of lymphnode reactivity).
Ann. N.Y. Acad. Sci. 99, 821 – 835 (1962)

15. Campbell-Cree, J.
Homografting of haemopoietic tissue after cytotoxic drugs.
The Lancet, 1104 – 1105 (1962)

16. Clémancon, G.
Azurgranulierte Lymphozyten und ihre Beziehung zur Hepatitis Epidemica.
Dtsch. Med.Wschr. 84, 38 – 42 (1959)

17. Cottier, H.
Cronkite, E.P.
Jansen, C.R.
Rai, K.R.
Singer, S.
and Sipe, C.R.
Studies on lymphocytes III. Effects of extracorporeal irradiation of the circulating blood upon the lymphoreticular organs in the calf.
Blood 24, 241 – 253 (1964)

18. Cronkite, E.P.
Jansen, C.R.
Mather, G.C.
Nielson, N.O.
Usenik, E.A.
Adamik, E.R.
and Sipe, C.R.
Studies on lymphocytes I. Lymphopenia produced by prolonged extracorporeal irradiation of circulating blood.
Blood 20, 203 – 213 (1962)

19. Cronkite, E.P.
Jansen, C.R.
Cottier, H.
Kanti Rai
and Sipe, C.R.
Lymphocyte production maesured by extracorporeal irradiation and labelling techniques.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 113, 566–577 (1964)

20. Cross, A.M.
Leuchars, E.
and Miller, I.F.A.P.
Studies on the recovery of the immune response in irradiated mice, thymectomiced in adult life.
J. Exp. Med. 119, 837 – 842 (1964)

21. Dempster, W.J.
Lennox, B.
and Boag, J.W.
Prolongation of survival of skin homotransplants in the rabbit by irradiation of the host.
The Brit. J. of Exp. Path.31, 670–679 (1950)

22. Dickie, A.
and Hempelmann, L.H.
Morphologic changes in the Lymphocytes of persons exposed to ionizing radiation.
J. Lab. and Clin. Med. 32, 1045–1059 (1947)

23. Diethelm, L.
und Lorenz, W.
Hämatologische Studien an der röntgenbestrahlten Rattenmilz.
Blut, 253 – 275 (1964)

24. Dixon, F.J.
Weigle, W.O.
and Deichmiller, M.P.
The duration of responsiveness of lymphnodecells transferred to adult homologous recipients.
J. of Immunology 82, 248 – 251 (1959)

25. Dougherty, T.F. and Frank, J.A. — The quantitative and qualitative responses of blood lymphocytes to stress stimuli. The J. of Laborat. 42, 530 - 537 (1953)

26. Dougherty, T.F. Berliner, M.L. Schneebeli, G.L. and Berliner, D.L. — Hormonal control of lymphatic structure and function. Ann. N.Y. Acad. of Sci.113, 825-843 (1964)

27. Ehrich, W.E. — Die Entzündung. Handbuch d. Allg. Pathol. VII/I, 1 - 324 Berlin-Göttingen-Heidelberg (1956)

28. Everett, N.B. Rieke, W.O. Reinhardt, W.O. and Yoffey, J.M. — Radioisotypes in the study of blood cell formation with special references to lymphocytopoiesis. Symposion of Haemopoiesis, Ciba Foundation 43 - 66 (1960)

29. Everett, N.B. Caffrey, R.W. and Rieke, W.O. — Recirculation of lymphocytes. Ann. N.Y. Acad. Sci. 113, 887 - 897 (1964)

30. Fichtelius, K.E. Gisslén, H. and Hassler, O. — On the mechanism of the lymphocytosis following pertussis vaccination. Acta Haematol. 17, 106 - 110 (1957)

31. Fliedner, T.M. Kesse, M. Cronkite, E.P. and Robertson, J.S. — Cell proliferation in germinal centers of the rat spleen. Ann. N.Y. Acad. Sci. 113, 578-594 (1964)

32. Forssberg, A. — Effects of small doses of ionizing radiations. Adv. in Rad. Biol. 117 - 153 (1964)

33. Frank, J.A. and Dougherty, T.F. — The assessments of stress in human subjects by means of quantitative and qualitative changes of blood lymphocytes. Th. J. of Lab. 42, 538 - 549 (1953)

34. Frank, J.A. and Dougherty, T.F. — Effect of graded amounts of epinephrine on normal and stress lymphocytes of intact and adrenalectomized mice. The J. of Lab. Med. 45, 485 - 488 (1955)

35. Frank, J.A. and Dougherty, T.F. — The lymphocyte response to various stressors. Th. J. of Lab. Med 45, 876 - 880 (1955)

36. Globerson, A. Flore-Donati, L. and Feldmann, M. — On the role of the thymus in recovery of immunoligical reactivity following x-irradiation. Exp. Cell. Res. 28, 455 - 464 (1962)

37. Gorer, P.A. — Some recent work on toumor immunity. Arch. Canc. Res. 4, 149 - 156 (1956)

38. Gorman, J.G. and Chandler, J.W. — Is there an immunilogically incompetent lymphcyte? Blood 23, 117 - 128 (1964)

39. Govaerts, A. — Les anticorps de transplantation. Brüssel-Paris (1964)

40. Gowans, J.L. — The effect of the continous re-infusion of lymph and lymphocytes on the output of lymphocytes from the thoracic duct of un-aesthetized rats. Brit. J. Exp. Path. 38, 67 - 78 (1957)

41. Gowans, O.A. Mc Gregor and Cowen, D. — Initiation of immune responses by samll lymphocytes. Nature 196, 651 - 655 (1962)

42. Grundmann, E. — Experimentelle Untersuchungen über die funktionelle Zytomorphologie der lymphatischen Strukturen bei Entzündung sowie unter Crtison und DOCA. Beitr. Path. Anat.u.Allg. Path. 119, 377 - 432 (1958)

43. Grundmann,E. — Die Bildung der Lymphozyten und Plasmazellen im lymphatischen Gewebe der Ratten. Beitr. Pathol. Anat.u.Allg.Path. 119, 217 - 262 (1958).

44. Grundmann, E. — Zur Morphologie der Lymphozyten. Schweiz. Med. Wschr. 40, 1186-1197 (1961)

45. Hagen, U. — Strahlenschädigung der lymphatischen Organe. Med. Welt 18, 1009 - 1014 (1962)

46. Hamilton, L.D. — Control and functions of the lymphocytes. Ann. N.Y. Acad. Sci. 73, 39 - 46 (1958)

47. Hug, O. — Die akuten Allgemeinreaktionen bei Ganz- und Teilkörperbestrahlung. Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung. 581 - 662 (1959)

48. Hungerford, G.F. Reinhardt, W.O. and Choh Hao Li — Effects of pituitary and adrenal hormones on the numbers of thoracic duct lymphocytes Blood 7, 193 - 206 (1952)

49. Hurvitz, D. and Hirschhorn, K. — Suppression of in vitro lymphocytes responses by chloroquine. New England J. of Med. 273, 23 - 26 (1965)

50. Ingram, M. — Symposium on the immediate und low level effects of ionizing radiation. Venedig (1959).

51. Jorke, D. — Die Lymphoidzellen des Blutes. Hämatologie und Bluttransfusionswesen 2, 125 ff. Berlin(1963)

52. Kandutsch, A.A. — The Chemistry of transplantation antigen. Transplant. Bull. 27, 135 (1961)

53. Kauffmann, H.M. Cleveland, R.I. Dwyer, J.J. Lee, H.M. and Hume, D.M. — Prolongation of renal homograft function by local graft radiation. Surg. Gynec. Obstet. 120, 49 - 51 (1965)

54. Klima, R. — Grundlagen für eine Neuordnung der Hämatologie zellulärer Reaktionen im lymphatischen Apparat. Wien. Zschr. Inn. Med. 33, 125-135 (1952)

55. Kohn, H.J. and Kallmann, R.F. — Acute lethality studies with the rat: The LD50, death rate and recovery rate. Radiation Res. 7, 85 - 94 (1957)

56. Kotani, M. Seiki, K. Yamashita, A. and Horii, J. — Lymphatic drainage of thymocytes to the circulation in the guinea pig. Blood 4, 511 - 520 (1966)

57. Laitha, L.G. Lewis, C.L. Gunning, A.J. Sharp, A.A. and Callender, S. — Extracorporeal irradiation of the blood. A possible therapeutic measure. Lancet I, 353 (1962)

58. Leder, L.D. — Fermentzytochemische Untersuchungen zur Herkunft der Blutmonozyten. Klin. Wschr. 44, 25 (1966)

59. Léjeune, G. Castermans, A. Dieu, H.A. Haennen-Severyns, A.M. and Vranken, M. — Chemical assys of transplantatioantigenes. V. Tissue homotranspl. conf. Ann. N.Y. Acad. Sci. 99, 487 (1962)

60. Lennert, K. — Über Morphologie, Funktion und maligne Neoplasien der Lymphozyten. Zschr. f. Haut- u. Geschl.- Krankheiten 28, 389 - 404 (1960)

61. Lord, B.J. — Haemopoietic changes in the rat during growth an during continous gamma irradiation of the adult anmimal. Brit. J. Haematol. 11, 525-536 (1965)

62. Märki, H.H. — Zur Regulierung der Lymphozytenzahl im Blut. Schweiz. Med. Wschr. 91, 1189-1191 (1961)

63. Martin, D.C. Van de Water, J. Randel, D. and Lee, D.A. — Prolonged functional survival of dog renal grafts with local radiation. Surg. Forum. 15, 157 - 165 (1964)

64. Medawar, P.B. and Woodruff, M.F.A. — The induction of tolerance by skin homografts on newborn rats. Immunology I, 27 - 33 (1958)

65. Moloney, N.C. Mc Pherson, K., and Fliegelmann, L. — Esterase activity in leucocytes demonstratet by the use of Naphtol-AS-D-Chloracetate substrate. J. Histochem. Cytochem. 8, 200 (1960)

66. Najarian, J.S. and Feldman, J.D. — Specificity of passively transferred delayed hypersensitivity. J. Exp. Med. 118, 341 - 352 (1963)

67. Oppenheim, J.J.
Whang, J.
and Frei III, E.
Immunlogic and cytogenic studies of chronic lymphocytic leukemic cells.
Blood 26, 121 - 132 (1965)

68. Owen, R.D.
Immunogenetic consequences of vascular anastomes between bovine twin.
Science 102, 400 - 415 (1945)

69. Pichlmaier, H.
Die Bedeutung der Lymphozyten für die Homotransplantation.
München 1965

70. Pichlmaier, H.
und Brendel, W.
Experimentelle Gesichtspunkte zur Organtransplantation.
Klin. Wschr. 44, 57 - 66 (1966)

71. Pierce, J.C.
and Varco, R.L.
Induction of tolerance to a canine renal homotransplant with 6-mercapto-purine.
The Lancet 1, 781 - 782 (1962)

72. Prendergast, R.A.
Cellular specificity in the homograft rejection.
J. Exp. Med. 119, 377 - 387 (1964)

73. Rajewsky,B.
Aurand, K.
Hug, O.
Mergler, H.
Muth, H.
Pauly, H.
Schraub, A.
Six, E.
und Wolf, I.
Strahlendosis und Strahlenwirkung.
Tafeln und Erläuterungen für den Strahlenschutz.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart,
2. Aufl. (1956)

74. Reinhardt, W.O.
Some factors influencing the thoracic duct output of lymphocytes.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 113, 844-866 (1964)

75. Rieke, W.O.
Everett, N.B.
and Caffrey, R.W.
The sizes and interrelations of lympho-cytes in thoracic duct lymph und lymph node of normal and stimulated rats.
Acta Haemat. 30, 103 - 110 (1963)

76. Ross, M.H.
Furth, J.
and Bigelow, R.R.
Changes in cellular composition of the lymph caused by ionizing radiation.
Blood 7, 417 - 428 (1952)

77. Sacks, J.H.
Fillipone, D.R.
and Hume, D.M.
Studies of immune destruction of lymphoid tissue. I. Lymphocytotoxic effect of rabbit-anti-rat-lymphocite-antiserum.
Transplantation 2, 60 - 72 (1964)

77a Sanguinetti, F.A.
Gerstmair, G.
Eisenmann,R.
Waubke, R.
Rüdenholz, A.
Trepel, F.
und Pichlmaier, H.
Röntgenbestrahlung des Blutes im extra-korporalen Kreislauf und ihre Bedeutung für die Homotransplantation bei der Ratte.
Arch. Klin. Med. (1967); im Druck

78. Schooley, J.C.
Bryant, B.J.
and Kelly, L.S.
Preliminary autoradiographic observations of cellular proliferation in lymphoid tissues, using tritiated thymidine.
Stohlmann, F. jr.: The kinetics of cellular proliferation, 208 - 217
New York 1959

79. Schwartz, R.
Eisner, J.
and Dameshek, W.
The effect of 6-mercaptopurine in immune responses.
Clin. Res. 7, 39 - 49 (1959)

80. Schwartz, R.
and André, J.
The chemical suppression of immunity.
Grabar, P. and Miescher, P: Mechanism of cell and tissue damage produced by immune reaction. II. Internat. Sympos. Immunpath. Basel-Stuttgart 385-409 (1962)

81. Schwartz, J.A.
The morphologic responses of the lymphoid system to homografts. III. Electron microscopy study.
Blood 24, 112 - 133 (1964)

82. Sharp, J.A.
and Burwell, R.G.
Tissue culture studies of lymphoid tissue sensitized to skin homografts and explanted with donor tissue.
J. Anat. (London) 96, 457 - 465 (1962)

83. Shrek, R.
and Ott, J.H.
Study of the death of irradiated and nonirradiated cells by time-laps cinemicrography.
Am. Arch. Path. 53, 363 - 378 (1952)

84. Shrek, R.
Cinemicrographic observations and theoretical considerations on reactions of lymphocytes to x-rays.
Radiology 65, 912 - 919 (1955)

85. Shrek, R.
Dual morphologic reactions of rabbit lymphocytes to x-rays.
Am. Arch. Path. 63, 252 - 259 (1957)

86. Sommermeyer, K.
Die Entwicklung der Treffertheorie seit dem Jahre 1946 unter besonderer Berücksichtigung ihrer Anwendung auf die biologische Wirkung energiereicher Strahlen.
Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung.
1 - 67 (1959)

87. Stockinger, L.
und Kellner, G.
Der Lymphozytennukleolus.
Wien. Zschr. Inn. Med. 33, 135-141 (1952)

88. Trepel, F.
Waubke, R.
und Rastetter, J.
Untersuchungen zur funktionellen Differenzierung der mononukleären Leukozyten.
Blut, im Druck.

89. Trepel, F.
Waubke, R.
und Begemann, H.
Phagozytose durch Lymphozyten.
Klin. Wschr. 44, 256 - 261 (1966)

90. Volkmann, A. and Gowans, J.L. — The origin of macrophages from bone marrow in the rats. Brit. J. Exp. Path. 46, 62 - 70 (1965)

91. Wahler, B.C. and Widdicombe, J.G. — The blood lifespan of the lymphocyte in rabbits and rats. J. Physiol. 132, 41 - 42 (1956)

92. Warren, S. Holt, M.W. and Sommers, S.C. — Some cytologic and histochemical studies of radiation reaction. Am. J. Clin. Path. 22, 411-417 (1952)

93. Whitelaw, D.M. — The effect of total body irradiation on the labelling of circulating mouse lymphocytes with tritiated thymidine. Blood 25, 749 - 758 (1965)

94. Winchell, H.S. Pollycove, M. Andersen, A.C. and Lawrence, J.H. — Relatively selective beta irradiation of lymphatic stuctures in the dog using Y90 DTPA. Blood 23, 321 - 336 (1964)

95. Winter, H. — Cytologische Beobachtungen bei der Regeneration des lymphoretikulären Gewebes nach Ganzbestrahlung. Verh. d. dt. Gesellschaft f. Inn. Med. (1960)

96. Wiseman, B.K. — Criteria of the age of lymphocytes in the peripheral blood. J. Exp. Med. 54, 271 - 294 (1931)

97. Yoffey, J.M. and Courtice, F.C. — Lymphatics, Lymph and lymphoid tissue. Cambridge, Mass. Harvard University Press (1956)

98. Zukoski, C.F. Lee, H.M. and Hume, D.M. — The effects of antimetabolites on prolonging functional survival of canine renal homografts. 6-mercapto-purine, 8-azaguanine. Fed. Proc. 20, 34 (1961)

Herrn Professor Dr. H. Begemann danke ich für die freundliche Überlassung des Themas.
Mit Herrn Dr. F.W. Trepel verbindet mich eine freundschaftliche Zusammenarbeit. Ihm danke ich für zahlreiche Anregungen und eine beinahe unermüdliche Hilfe.
Herrn Dr. R. Waubke gilt meine Anerkennung für wertvolle Ratschläge, Herrn Dr. habil. H. Pichlmaier für die Ausführung der Shuntoperationen und Frl. M.T.A. W. Schurian für liebenswürdige Assistenz.

L E B E N S L A U F

des

Gerhard Gerstmair

Geboren: am 6. April 1941 in Prag;

Eltern: Oberverwaltungsrichter Gregor Gerstmair und seine Frau Anna, geborene Wanninger;

Ausbildung: vier Jahre Volksschule in Stadtbergen bei Augsburg, neun Jahre Oberschule im Staatlichen Realgymnasium zu Augsburg und Reifeprüfung daselbst im Frühjahr 1960;
immatrikuliert im Herbst 1960 an der Ludwig-Maximilians- Universität in München als Student der medizinischen Fakultät;
Beginn der Versuche zu dieser Arbeit im Sommer 1964 im hämatologischen Labor des Schwabinger Krankenhauses;
Medizinisches Staatsexamen am 20. 12. 1966 in München beendet;
inzwischen neun Monate Medizinalassistentenzeit an der medizinischen Universitätsklinik in Freiburg.